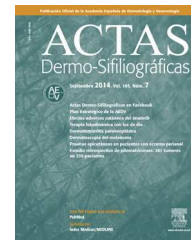




# ACTAS Derma-Sifiliográficas

Full English text available at  
[www.actasdermo.org](http://www.actasdermo.org)



## REVISIÓN

# Filagrina: papel en la barrera cutánea y en el desarrollo de patología



M. Armengot-Carbo\*, Á. Hernández-Martín y A. Torrelo

Servicio de Dermatología, Hospital Infantil Niño Jesús, Madrid, España

Recibido el 12 de abril de 2013; aceptado el 13 de octubre de 2013

Disponible en Internet el 24 de marzo de 2014

### PALABRAS CLAVE

Filagrina;  
Epidermis;  
Ictiosis vulgar;  
Dermatitis atópica;  
Asma;  
Rinitis alérgica

### KEYWORDS

Filaggrin;  
Epidermis;  
Ichthyosis vulgaris;  
Atopic dermatitis;  
Asthma;  
Allergic rhinitis

**Resumen** La filagrina es una proteína estructural fundamental para el desarrollo y mantenimiento de la barrera cutánea. En los últimos años se ha llevado a cabo una extensa investigación sobre su función y su implicación en distintos trastornos cutáneos y extracutáneos. Se ha comprobado que las mutaciones en el gen que la codifica, el gen *FLG*, son la causa de la ictiosis vulgar y confieren un mayor riesgo de desarrollar dermatitis atópica y otras enfermedades atópicas, además de agravar algunas enfermedades. El presente artículo revisa la información existente en cuanto a su papel en la barrera cutánea, así como respecto a las mutaciones en el gen *FLG* y las consecuencias que conlleva el déficit de filagrina.

© 2013 Elsevier España, S.L.U. y AEDV. Todos los derechos reservados.

### The Role of Filaggrin in the Skin Barrier and Disease Development

**Abstract** Filaggrin is a structural protein that is fundamental in the development and maintenance of the skin barrier. The function of filaggrin and its involvement in various cutaneous and extracutaneous disorders has been the subject of considerable research in recent years. Mutations in *FLG*, the gene that encodes filaggrin, have been shown to cause ichthyosis vulgaris, increase the risk of atopic dermatitis and other atopic diseases, and exacerbate certain conditions. The present article reviews the current knowledge on the role of filaggrin in the skin barrier, *FLG* mutations, and the consequences of filaggrin deficiency.

© 2013 Elsevier España, S.L.U. and AEDV. All rights reserved.

## Introducción

La principal función de la piel es actuar como una barrera que separa el medio interno del medio externo, protegiendo de agentes agresores exógenos y minimizando la pérdida de agua y otros componentes fundamentales del organismo hacia el exterior<sup>1</sup>. En el desarrollo de la barrera cutánea destaca la filagrina, tanto por su papel fundamental en la

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [miquelarmengot@gmail.com](mailto:miquelarmengot@gmail.com)

(M. Armengot-Carbo).

diferenciación epidérmica terminal como por su implicación en algunas de las enfermedades dermatológicas más frecuentes, como la dermatitis atópica (DA) o la ictiosis vulgar (IV)<sup>2</sup>. La filagrina es una importante proteína estructural que fue identificada por primera vez en 1977<sup>3</sup>. Posteriormente, al observar que producía una agregación y compactación de los filamentos intermedios de queratina, se introdujo el término filagrina (*filaggrin*) para nombrarla, acrónimo de *filament-aggregating protein*<sup>4</sup>. Esta proteína se sintetiza en forma de un precursor proteico gigante denominado profilagrina, que es el principal componente de los gránulos de queratohialina del estrato granuloso de la epidermis.

## Papel de la filagrina en la formación de la barrera epidérmica

El elemento fundamental de la barrera cutánea es el estrato córneo. Este estrato es el producto final de la diferenciación de los queratinocitos, que son células nucleadas y viables desde la capa basal hasta la capa granulosa y que van expresando distintas proteínas estructurales según van madurando<sup>5</sup>. En los pasos finales de la diferenciación queratinocítica, estas células sufren cambios profundos en su estructura que provocan su transformación en células escamosas planas anucleadas: los *corneocitos*. Estos corneocitos, que permanecen firmemente unidos entre sí mediante corneodesmosomas, están recubiertos por una envoltura celular llamada *envoltura cornificada* (EC), que tiene una porción proteica y otra lipídica y que les provee de resistencia mecánica y química<sup>5</sup>. Entre ellos existe una matriz extracelular hidrófoba rica en lípidos dispuestos en bicapas laminares<sup>6</sup>. A esta organización del estrato córneo se la ha denominado «en ladrillos y cemento», donde los ladrillos son los corneocitos y el cemento, la matriz lipídica extracelular<sup>7</sup>.

En la epidermis existe un gradiente de calcio, de modo que se detecta una baja concentración en la capa basal, más baja en el estrato espinoso y alta en el estrato granuloso, siendo de nuevo muy baja en el estrato córneo<sup>8</sup>. Este gradiente es importante en la diferenciación terminal de los queratinocitos<sup>2,9</sup>. El aumento de la concentración de calcio en el estrato granuloso produce la liberación del contenido de los gránulos de queratohialina, de forma que la profilagrina queda expuesta y va a ser procesada y fragmentada en monómeros activos de filagrina<sup>10</sup>. Esta filagrina libre se une a los filamentos intermedios de queratina produciendo su agregación y compactación, lo cual provoca un colapso y aplanamiento de la célula. Coincidiendo con este proceso, la célula expresa una serie de proteínas estructurales que conforman la porción proteica de la EC<sup>11,12</sup> a la cual se unen (por la acción de las transglutaminasas) los filamentos intermedios de queratina agregados por la filagrina<sup>6</sup>. Además, el aumento del calcio también provoca la liberación del contenido de los *cuerpos laminares*, gránulos ricos en lípidos y enzimas originados en el aparato de Golgi. A partir de estos lípidos y de la acción de las enzimas liberadas, se constituirá la porción lipídica de la EC y la matriz extracelular del estrato córneo<sup>6,11,13</sup>.

La filagrina va a seguir siendo procesada por distintas proteasas. Esta proteólisis produce la liberación de aminoácidos higroscópicos y sus derivados, que constituyen el

factor humectante natural (FHN), responsable de retener el agua en el estrato córneo<sup>14</sup>. La degradación de algunos de estos aminoácidos da lugar a la formación de los ácidos orgánicos transurocánico (UCA, derivado de la histidina) y pirrolidona-5-carboxílico (PCA, derivado de la glutamina). Estos ácidos son uno de los principales factores responsables de mantener un pH ácido en el estrato córneo<sup>15</sup>, el cual es fundamental por su papel en el metabolismo y organización de los lípidos de la matriz extracelular<sup>16</sup>, por su acción antimicrobiana y por su papel regulador de la actividad enzimática y de la descamación fisiológica<sup>17</sup>. Además, el UCA tiene un efecto fotoprotector frente a la radiación ultravioleta (UV)<sup>18</sup> y ha demostrado ser un mediador clave en la inmunosupresión inducida por los UVB<sup>19,20</sup>.

## Consecuencias del déficit de filagrina en la barrera cutánea

El déficit de filagrina va a tener una importante repercusión en la barrera epidérmica (tabla 1). Se va a producir una alteración en la organización de los filamentos de queratina del citoesqueleto y en la estructura de la EC. Habrá también una disminución de los gránulos de queratohialina, una disminución marcada del FHN (y por tanto de la hidratación del estrato córneo) y una alcalinización del pH<sup>9</sup>. A parte de estos cambios, estudios ultraestructurales recientes han revelado que su déficit también se asocia a una disminución global de la densidad de corneodesmosomas y de uniones estrechas intercelulares, así como a anomalías en la arquitectura de la matriz lipídica extracelular, hechos que contribuyen notablemente a la alteración de la función barrera<sup>16</sup>. Esto estaría provocado por las anomalías en la organización del citoesqueleto (que alteran la maduración y exocitosis de los cuerpos laminares, provocando una distribución no homogénea de los lípidos y enzimas secretados) y con el aumento del pH (que modula la actividad de dichas enzimas)<sup>16</sup>. Es más, el aumento de actividad de ciertas proteasas causado por la elevación persistente del pH promueve la liberación de mediadores proinflamatorios por parte de los queratinocitos, que inducen una respuesta inflamatoria Th2-mediada incluso en ausencia de alérgenos<sup>21</sup>. Por ejemplo, la alcalinización del pH aumenta la actividad de las proteasas responsables de la producción de las interleucinas IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$  a partir de sus proproteínas inactivas generadas por los queratinocitos<sup>22</sup>.

## Genética de la filagrina

La profilagrina está codificada por el gen *FLG*, localizado en el *complejo de diferenciación epidérmica* del cromosoma 1 (locus 1q21), un clúster de genes que codifican proteínas implicadas en la diferenciación epidérmica<sup>23</sup>. El gen *FLG* consta de 3 exones y 2 intrones (fig. 1). La transcripción se inicia en el exón 2, pero es el exón 3 el que codifica la mayor parte de la proteína, constituyendo uno de los exones más grandes de todo el genoma<sup>24</sup>. La proteína codificada (profilagrina) es rica en aminoácidos histidina y contiene entre 10 y 12 repeticiones de filagrina flanqueadas por dominios N- y C- terminales (fig. 1).

Estos dominios también son funcionales. El dominio N-terminal está compuesto a su vez por 2 subdominios: A y B.

**Tabla 1** Consecuencias del déficit de filagrina en la barrera epidérmica

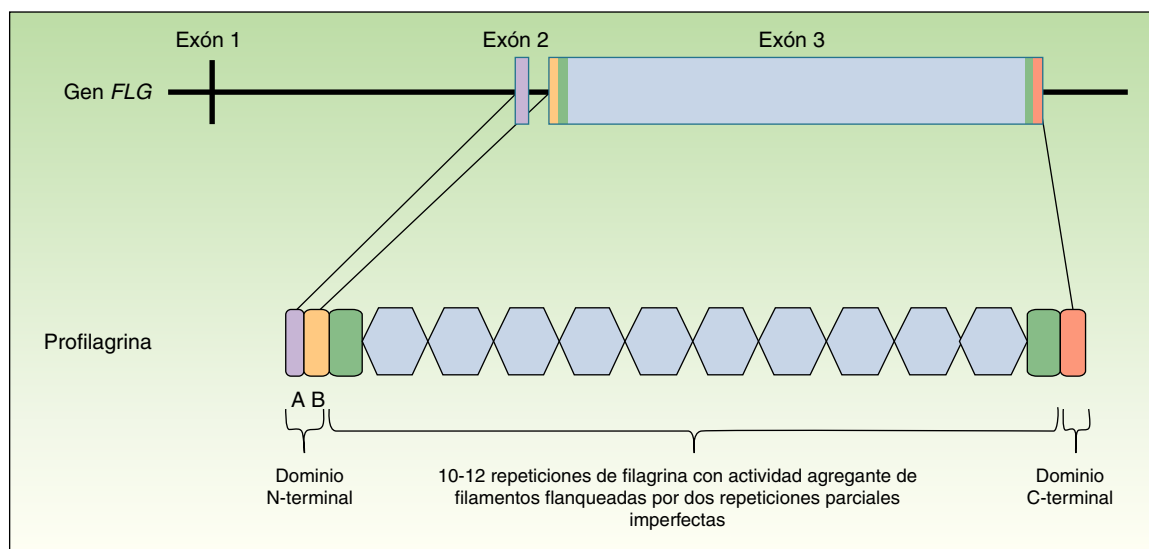
	Repercusiones bioquímicas y estructurales	Consecuencias
Superficie cutánea	Aumento del pH	Aumento de adhesión y proliferación de estafilococos
Capa córnea	Incremento de la actividad de ciertas proteasas	Liberación de mediadores proinflamatorios epiteliales
Zona de transición granulosa-capla córnea	Disminución del factor humectante natural	Xerosis
	Disminución de la densidad de corneodesmosomas y de uniones intercelulares estrechas	Alteración de la función barrera
	Anomalías en la arquitectura de la matriz lipídica extracelular	Aumento de la exposición a alérgenos
Capa granulosa	Alteración de la maduración y excreción de los cuerpos laminares	Alteración de la función barrera
	Alteración de la agregación de filamentos intermedios de queratina	Aumento de la exposición a alérgenos
	Disminución de los gránulos de queratohialina	-

El subdominio A contiene 2 lugares de unión al calcio<sup>25</sup>. De este modo, va a ser la unión del calcio a este subdominio lo que va a producir una serie de cambios conformacionales en la molécula de profilagrina que va a dar inicio a su procesamiento<sup>2</sup>. Por su parte, el subdominio B contiene una señal de localización nuclear que facilita la translocación del dominio N-terminal al núcleo celular cuando es escindido del resto de la proteína<sup>26</sup>. Se ha sugerido que este dominio N-terminal, una vez dentro, jugaría un papel importante en la pérdida del núcleo que sufre el queratinocito en su transformación a corneocito anucleado<sup>27</sup> y se le ha atribuido también un papel en el ensamblaje de la EC<sup>28</sup>. El dominio C-terminal es imprescindible para un correcto procesamiento de la profilagrina, aunque su función exacta se desconoce<sup>2</sup>.

entonces se han descrito muchas más, pero todas ellas son mutaciones de pérdida de función (mutaciones de sustitución de aminoácidos o de alteración en el marco de lectura)<sup>21</sup>. Además se ha observado que muestran especificidad étnica/geográfica, de tal forma que las mutaciones detectadas en población europea son distintas de las detectadas en población asiática<sup>30</sup>. También varía la frecuencia de las mismas, ya que en Irlanda 2 mutaciones (R501X y 2282del4) suponen el 80% de todas las mutaciones de *FLG*, mientras que en Singapur ninguna mutación predomina tanto sobre las otras<sup>21</sup>. En cuanto a la prevalencia de mutaciones en la población general, sería globalmente de un 7,7% a nivel europeo, mientras que en asiáticos es de un 3%<sup>31</sup>. Centrándose en los estudios europeos, llama la atención una clara diferencia de prevalencia entre el norte y el sur del continente. La mayoría de publicaciones corresponden al norte, donde se sitúa en un 10% aproximadamente (7-14%)<sup>31</sup>. Existen solo 2 estudios de población mediterránea, uno de población francesa<sup>32</sup> y otro de población italiana<sup>33</sup>, pero ambos revelan una prevalencia mucho menor, del 4%.

### Mutaciones en el gen de la filagrina (FLG)

Las primeras mutaciones identificadas en el gen *FLG* fueron la R501X y la 2282del4, en pacientes con IV<sup>29</sup>. Desde



**Figura 1** Estructura del gen *FLG* y de la proteína profilagrina.

**Tabla 2** Trastornos que han sido asociados a mutaciones en *FLG***Cutáneos**

*Ictiosis vulgar*<sup>29</sup>  
*Dermatitis atópica*<sup>45</sup> y sus complicaciones:  
 Infección recurrente por *Staphylococcus aureus*<sup>80</sup>  
*Eczema herpeticum*<sup>71</sup>  
*Dermatitis de contacto irritativa*<sup>86,87</sup>  
*Sensibilización al níquel y dermatitis de contacto alérgica al níquel de inicio más temprano*<sup>88,89</sup>  
*Eczema crónico de manos*<sup>90</sup>  
*Alopecia areata: curso más agresivo en pacientes con dermatitis atópica*<sup>91</sup>  
*Fenotipo más grave de ictiosis recesiva ligada a X*<sup>92</sup>  
*Fenotipo más grave de paquioniquia congénita*<sup>93</sup>

**Extracutáneos**

*Asma*<sup>55,70</sup>  
*Rinitis alérgica*<sup>55</sup>  
*Alergia al cacahuete*<sup>56</sup>  
*Diabetes mellitus tipo 2*<sup>94</sup>

Fuente: Adaptado de Thyssen et al.<sup>51</sup>.

Este gradiente europeo, aparentemente dependiente de la latitud, hace sugerir a los autores italianos que quizás las mutaciones en *FLG* ofrezcan algún tipo de ventaja de supervivencia en el norte<sup>33</sup>. Se ha propuesto que esto podría guardar relación con el menor nivel de UCA que presentan estos pacientes, que determina una mayor sensibilidad a la radiación UV<sup>18,32,34</sup>. De hecho, estudios poblacionales recientes han revelado que los individuos portadores de mutación en *FLG* tienen unos niveles séricos de vitamina D un 10% superiores a los controles<sup>35</sup>. En conjunto, estos datos demuestran que en latitudes con menor incidencia de radiación UV los portadores de mutaciones en *FLG* podrían estar más protegidos de desarrollar enfermedades como el raquitismo<sup>31</sup>.

En la **tabla 2** se enumeran los trastornos que se han relacionado con el déficit de filagrina causado por mutaciones en el gen *FLG*, que principalmente son la IV y los trastornos atópicos.

**Ictiosis vulgar**

La IV es el trastorno de queratinización más frecuente, con una prevalencia estimada de entre 1/80 a 1/250 niños ingleses en edad escolar<sup>15</sup>, y es la enfermedad de herencia mendeliana causada por las mutaciones en el gen *FLG*<sup>31</sup>. Ya en los años ochenta se describió la ausencia (o marcada reducción) de los gránulos de queratohialina en biopsias de pacientes con IV, así como una disminución en la expresión de filagrina detectada por técnicas de inmunotinción<sup>36</sup>. Sin embargo, hasta 2006 no se identificaron las mutaciones de pérdida de función en el gen *FLG* como causantes del proceso<sup>29</sup>, una demora ocasionada por la gran longitud del gen y su secuencia altamente repetitiva, que hacía difícil su secuenciación mediante técnicas de PCR convencionales<sup>15</sup>. El descubrimiento de estas mutaciones permitió aclarar el patrón de herencia de la enfermedad, que es autosómica semidominante, lo cual explica a su vez

**Figura 2** Descamación fina de tono claro en paciente con ictiosis vulgar.

la variabilidad fenotípica de la IV. Los pacientes heterocigotos sufren una haploinsuficiencia, es decir, una reducción del 50% en la expresión de filagrina, lo cual provoca una clínica menos marcada (o incluso ausencia de síntomas) siendo más modulable según factores externos como la aplicación de cremas hidratantes o la humedad ambiental. Sin embargo, los individuos homocigotos desarrollan de forma completa las manifestaciones de la enfermedad<sup>21,29</sup>.

Clínicamente se caracteriza por la aparición posnatal (generalmente en el primer año de vida) de xerosis, queratosis pilar, hiperlinealidad palmar y atopia<sup>21</sup>. La xerosis se manifiesta en forma de descamación fina, a veces poligonal, que afecta principalmente a la superficie extensora de extremidades, cuero cabelludo, región centroracial y tronco, mientras que los pliegues suelen estar respetados (**fig. 2**). El grado de humedad modifica el procesamiento de la filagrina<sup>14,37</sup>, lo cual explica esta tendencia a respetar los pliegues y también por qué la mayoría de estos pacientes empeoran en invierno, cuando la humedad ambiental es más baja<sup>31</sup>.

Es frecuente (hasta un 76% de los pacientes con IV) la aparición de fisuras dolorosas en manos, dedos o talones, lo cual está estrechamente relacionado con el grado de humedad ambiental<sup>31</sup>. Es más, las mutaciones en el gen *FLG* se han asociado al desarrollo de dermatitis fisurada en dorso de manos y dedos en los pacientes con DA e incluso en la población general<sup>31,38</sup>.

La hiperlinealidad palmar (**fig. 3**) y la queratosis pilar son hallazgos típicos, no solo en los pacientes con clínica de IV sino también en todos aquellos individuos portadores de mutaciones en *FLG*. De hecho, un estudio determinó que la hiperlinealidad palmar tiene un valor predictivo positivo del 71% y un valor predictivo negativo (VPN) del 90% para mutación en el gen *FLG*. Es decir, el 71% de los niños con hiperlinealidad palmar son portadores de mutación, mientras que resulta muy improbable que un paciente sin hiperlinealidad palmar lo sea. En el caso de la queratosis pilar, el valor predictivo positivo era del 53% y el valor predictivo negativo, del 90%<sup>39</sup>.

Finalmente, un 35-70% de los pacientes con IV van a desarrollar enfermedad atópica, en especial dermatitis, pero también rinitis alérgica y asma<sup>40</sup>. Este hecho ha provocado



**Figura 3** Hiperlinealidad palmar en un niño de 7 años de edad con ictiosis vulgar.

una extensa investigación de la relación existente entre las mutaciones en el gen *FLG* y las enfermedades atópicas, que ha ofrecido datos reveladores sobre la patogénesis de estos trastornos complejos.

### Enfermedades atópicas: *marcha atópica*

La atopia se define como una tendencia personal o familiar a la sensibilización y producción de anticuerpos IgE en respuesta a la exposición a alérgenos comunes en el ambiente, a los que todos los individuos están expuestos pero frente a los cuales la mayoría no desarrollan ninguna respuesta<sup>41</sup>. Esta tendencia predispone al desarrollo de las llamadas *enfermedades atópicas*, que afectan a un 20% de la población de los países desarrollados<sup>42</sup>. El concepto de *marcha atópica* fue introducido para describir la tendencia de la DA a preceder el desarrollo secuencial de asma y rinitis alérgica<sup>43</sup>, lo que sugiere que tiene un papel iniciador del proceso. Recientemente se ha sugerido que las alergias alimentarias también podrían formar parte de esta *marcha atópica*<sup>44</sup>.

### Mutaciones en *FLG* e inicio de la *marcha atópica*

Ya en 2006, el mismo año en que se describe su relación con la IV, se encontró que las mutaciones en el gen *FLG* se asociaban de forma significativa al desarrollo de DA, el primer paso de la *marcha*<sup>45</sup>. Tradicionalmente la DA se había considerado un trastorno inmunomediado que se acompañaba de una alteración secundaria de la barrera cutánea. Sin embargo actualmente, sobre todo desde el descubrimiento del papel que juega la filagrina en muchos pacientes, predomina la corriente de pensamiento que la entiende como un trastorno primario de la barrera cutánea<sup>40</sup>. Según este nuevo enfoque patogénico, en todos los pacientes con DA existe un defecto inherente de la barrera (y de hecho se ha demostrado que está alterada tanto en piel lesional como no lesional<sup>46,47</sup>). Este defecto puede estar determinado por distintos mecanismos moleculares, siendo uno de los más importantes y frecuentes el déficit de filagrina causado por las mutaciones en el gen *FLG*<sup>15</sup>. La alteración de la barrera cutánea, junto con los cambios inmunológicos que origina, dará lugar a las manifestaciones clínicas de la enfermedad<sup>21,40,42</sup>.

### Influencia de las mutaciones en *FLG* en el sistema inmune

La alteración del estrato córneo permite la entrada de alérgenos, los cuales son capturados y procesados por las células de Langerhans de la epidermis. Estas migran a los ganglios linfáticos donde interactúan con las células T y promueven una inmunidad Th2<sup>40,42,48</sup>. La sensibilización percutánea a través de una barrera cutánea alterada ha sido demostrada en ratones con mutaciones en *FLG*<sup>49-51</sup> y además se ha visto que pacientes con DA portadores de mutación en *FLG* tienen una frecuencia significativamente mayor de respuestas Th2 alérgeno-específicas<sup>52</sup>. La entrada constante de alérgenos acabará produciendo una polarización de la inmunidad adaptativa hacia Th2<sup>42</sup>, caracterizada por la producción local de citocinas Th2 (IL-4, IL-5 e IL-13), aumento de la producción, supervivencia y activación de eosinófilos y mastocitos, y producción de IgE alérgeno-específicas con aumento de la IgE total<sup>40</sup>. Por otra parte, también promueven esta polarización hacia Th2 toda una serie de citocinas liberadas por los queratinocitos alterados<sup>40</sup>, como las IL-1 o la *thymic stromal lymphopoietin* (TSLP), a consecuencia de una mayor actividad de las proteasas endógenas<sup>22</sup> y también por la acción de proteasas exógenas (como las liberadas por fuentes de alérgenos [como los ácaros del polvo, cucarachas, hongos y pólenes], o las producidas por *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), que frecuentemente coloniza la piel de estos pacientes)<sup>53</sup>.

### Mutaciones en *FLG* y progresión de la *marcha atópica*

Estudios recientes han demostrado que los portadores de mutación en *FLG* tienen un mayor riesgo de progresión de la *marcha atópica*<sup>54</sup>, encontrándose en ellos un riesgo significativamente superior de desarrollar asma<sup>55</sup>, rinitis alérgica<sup>55</sup> y alergia alimentaria al cacahuate<sup>56</sup> respecto a los no portadores.

La filagrina no se expresa en mucosa bronquial, nasal ni digestiva y, por lo tanto, no habrá alteración de la función barrera a este nivel<sup>40,57,58</sup>. Así pues, el mecanismo por el cual las mutaciones en *FLG* promueven respuestas alérgicas en estas mucosas será a través de una sensibilización sistémica a alérgenos que han penetrado a través de una barrera cutánea alterada, no a través de la mucosa. Esto explica la tendencia de la DA a preceder al resto de trastornos atópicos en la *marcha atópica*<sup>9</sup>. En consecuencia, es posible que un correcto tratamiento de la DA en los niños, que restaure y mantenga la barrera epidérmica, pueda evitar el desarrollo posterior de asma, rinitis alérgica o alergias alimentarias<sup>42</sup>. Esto apoya la tendencia creciente a mantener una actitud terapéutica activa (*versus* reactiva) frente a la DA, sobre todo en los casos con clínica moderada-grave<sup>59,60</sup>.

### Dermatitis atópica

#### Mutaciones en *FLG*: papel en el riesgo, gravedad, manifestaciones y epidemiología de la dermatitis atópica

La DA afecta al 20% de los niños, causando un fuerte impacto en su calidad de vida y constituyendo la enfermedad

crónica más prevalente de la infancia<sup>61</sup>. Más de 30 estudios han confirmado su asociación con mutaciones en *FLG*<sup>5</sup> y 2 metaanálisis recientes sitúan la razón de ocurrencia u *odds-ratio* (OR) de tener DA en asociación a mutación de *FLG* entre un 3,12<sup>62</sup> y un 4,78<sup>63</sup>. Es decir, los portadores de mutaciones en *FLG* tienen 4 veces más riesgo de sufrir DA que los no portadores. Pero parece que no solo implica un mayor riesgo, sino también una mayor gravedad<sup>64</sup>. Globalmente, «solo» un 15-20% de los pacientes europeos con DA son portadores de mutaciones en *FLG*<sup>10</sup>. Sin embargo, si estos pacientes se dividen según la gravedad clínica se observa que las mutaciones son mucho más frecuentes en los que presentan una DA moderada-grave (50%) que en aquellos con DA leve (4-15%)<sup>65</sup>.

Agrupando los datos de todos los estudios realizados hasta el momento, se ha descrito un perfil clínico de DA asociada a mutaciones en *FLG* ( $DA_{FLG}$ ) distinto de aquellos en los que no existe mutación subyacente ( $DA_{no-FLG}$ )<sup>5</sup>. De este modo, los pacientes con  $DA_{FLG}$  presentan mayor gravedad clínica<sup>64</sup>, un inicio más temprano<sup>66,67</sup>, mayor tendencia a persistir en la edad adulta<sup>68</sup>, mayor alcalinización del pH del estrato córneo<sup>69</sup>, niveles de FHN mucho menores<sup>5</sup>, mayor producción de IL-1 $\beta$  en el estrato córneo<sup>22</sup>, hiperlinealidad palmar<sup>39</sup>, dermatitis fisurada en dorso de manos más frecuente<sup>38</sup>, niveles superiores de IgE sérica<sup>48</sup>, mayor sensibilización alérgica<sup>48</sup> y desarrollo de múltiples alergias<sup>63</sup>, mayor riesgo de asma<sup>55,70</sup> y mucho más riesgo de *eczema herpeticum* (10 veces más)<sup>71</sup>.

Además, esta división parece también importante desde el punto de vista de la investigación epidemiológica. La prevalencia de DA es muy superior en los países industrializados, por lo que se sospecha la influencia de factores ambientales<sup>5</sup>. Estudios recientes han demostrado que los niños que tienen un gato (no así un perro) a edades tempranas<sup>72,73</sup>, así como aquellos que tienen un hermano mayor (que posiblemente implica mayor exposición a patógenos y alérgenos)<sup>74</sup> tienen un riesgo significativamente superior de desarrollar DA. Pero este riesgo únicamente lo presentan aquellos que son portadores de mutaciones en *FLG*. De modo similar, la gravedad clínica se correlaciona con la presencia de IgE específica para ácaros del polvo o caspa de gato entre los pacientes con  $DA_{FLG}$ , pero no entre los  $DA_{no-FLG}$ <sup>10</sup>. Por lo tanto, parece importante que en el futuro los estudios epidemiológicos de DA estratifiquen a los pacientes en portadores y no portadores de mutación en *FLG*<sup>5</sup>.

### Mutaciones en *FLG* y *Staphylococcus aureus* en dermatitis atópica

Según algunos estudios, más del 90% de los pacientes con DA están colonizados por *S. aureus* (frente al 5% de los sujetos sanos)<sup>5,75</sup> y la gravedad clínica de la dermatitis se correlaciona con la cantidad de *S. aureus* presente en la piel<sup>76</sup>. Esta colonización está condicionada por la integridad de la barrera cutánea y por la expresión de proteínas bacterianas de adhesión, las cuales también contribuyen a la inflamación<sup>5</sup>. Se ha demostrado *in vitro* que el pH ácido del estrato córneo inhibe la expresión de estas proteínas en la superficie bacteriana y que los productos de degradación de la filagrina UCA y PCA son capaces por sí mismos,

e independientemente del pH, de inhibir la expresión de algunas de ellas<sup>77</sup>. Por lo tanto, las mutaciones en *FLG* van a condicionar una mayor colonización por *S. aureus* no solo alterando la barrera cutánea sino también aumentando la expresión bacteriana de proteínas de adhesión, al provocar una alcalinización del pH córneo y una disminución de los niveles de UCA y PCA. Además, el «ambiente Th2» que existe en las lesiones de estos pacientes (y que está condicionado en parte por el déficit de filagrina) inhibe la expresión de péptidos antimicrobianos<sup>78</sup>.

Por otro lado, *S. aureus* secreta una amplia variedad de factores de virulencia que agravan la inflamación, exacerbando las lesiones cutáneas y dificultan su curación<sup>77</sup>. Entre estos factores de virulencia el más importante es la  $\alpha$ -toxina, que induce muerte celular formando poros en la membrana plasmática que provocan citólisis. Un estudio reciente ha demostrado *in vitro* que los queratinocitos con déficit de filagrina son más vulnerables a la acción de esta toxina que aquellos que la expresan normalmente<sup>79</sup>. Esto se debe a que las células que no expresan filagrina tienen también una expresión disminuida de esfingomielinasa, lo cual se traduce en un aumento de esfingomielina, un lípido de la membrana plasmática que sirve de receptor para la  $\alpha$ -toxina<sup>79</sup>.

En definitiva, las mutaciones en *FLG* no solo van a facilitar la colonización por *S. aureus* sino que también van a hacer que los queratinocitos sean más vulnerables a la acción de sus toxinas. De hecho, en un estudio se observó que los pacientes con DA portadores de mutación (comparados con los no portadores) tenían 7 veces más riesgo de sufrir más de 4 episodios al año de infección cutánea que requiriera tratamiento antibiótico<sup>80</sup>.

A nivel terapéutico, todos estos datos apoyan la necesidad de tomar medidas que reduzcan la colonización por *S. aureus* y que acidifiquen el pH cutáneo para obstaculizarla<sup>77</sup>.

### Otros mecanismos de déficit de filagrina en dermatitis atópica

Aunque las mutaciones en *FLG* pueden justificar muchos casos de DA (sobre todo graves), una gran parte de estos pacientes no son portadores de ninguna mutación<sup>10</sup>. Sin embargo, se ha observado que en estos últimos la expresión de filagrina también está disminuida, si bien en menor medida<sup>10</sup>. Por lo tanto parece que hay otros mecanismos implicados en su déficit.

### Citocinas Th2

Las lesiones agudas de DA muestran una inflamación predominantemente Th2, en respuesta a la entrada de antígenos externos a través de la barrera cutánea alterada<sup>5,81</sup>. Se ha demostrado que la exposición *in vitro* de los queratinocitos a las citocinas Th2 produce una reducción significativa en la expresión de filagrina<sup>82</sup>. Por lo tanto, en muchos pacientes con DA sin mutaciones en *FLG*, existiría un déficit de filagrina adquirido a causa del «ambiente Th2». Esto a su vez causaría una mayor alteración del estrato córneo, con mayor entrada de antígenos que acabará produciendo mayor polarización inmune hacia Th2, estableciéndose un círculo vicioso. A esto se le suma que las citocinas Th2 también producen una reducción en la expresión de proteínas de

la EC como loricrina e involucrina, alterándose más aún la estructura del estrato córneo<sup>83</sup>. De nuevo, quedaría justificada una actitud terapéutica activa que rompa estos círculos viciosos<sup>59</sup>.

### Variación en el número de copias

Como se ha dicho previamente, la profilagrina codificada por el gen *FLG* puede contener entre 10 y 12 monómeros de filagrina<sup>2</sup>. A esto se le llama *variación en el número de copias* y un estudio reciente ha demostrado que tiene relevancia clínica<sup>84</sup>. En este estudio irlandés se observó que la variante más frecuente de profilagrina es la que contiene 11 monómeros (51,5%), seguida de la de 10 (33,9%) y la de 12 (14,6%) y vieron que la variación en el número de copias confiere mayor riesgo de DA de forma dosis dependiente. De este modo, un sujeto cuyos 2 alelos codifiquen 10 monómeros tiene un riesgo 1,67 veces superior de sufrir DA respecto a un paciente cuyos 2 alelos codifiquen 12 monómeros, y por cada monómero adicional este riesgo se reduce<sup>84</sup>. Además, un menor número de copias también se correlaciona con un menor nivel de UCA en estrato córneo<sup>84</sup>. Con los datos que obtienen, estiman que un aumento del 5-10% en los niveles de filagrina puede tener repercusión clínica, lo cual parece el punto de inicio para el desarrollo de nuevos tratamientos.

### Mecanismos reguladores epigenéticos

Se trata de mecanismos que alteran la expresión de un gen sin cambiar su secuencia de nucleótidos. De momento los únicos datos a este respecto en el campo de la filagrina proceden de un estudio en el que se observó que, en individuos haploinsuficientes, cuanto mayor es la metilación del gen *FLG* mayor es el riesgo de desarrollar DA<sup>85</sup>. Se supone que dicho riesgo se debería a una menor expresión del gen condicionada por la metilación, pero no evalúan este parámetro<sup>85</sup>.

### Asma, rinitis alérgica y alergia alimentaria

El 40% de los niños con DA acaban desarrollando asma o rinitis alérgica<sup>10</sup>. En el caso del asma el riesgo se correlaciona con la gravedad de la afectación cutánea, de tal forma que el 70% de los pacientes con DA grave desarrolla asma, mientras que esto solo ocurre en el 20-30% de los que tienen DA leve y en el 8% de la población general<sup>42</sup>. Estudios poblacionales han demostrado que los portadores de mutaciones en *FLG* tienen un riesgo mayor de desarrollar asma, con una OR global de 1,8<sup>55,70</sup>. Pero este riesgo queda limitado a aquellos que sufren DA, en los que la OR se eleva a 3,3 (3,16-3,49)<sup>55,70</sup>. Los portadores de mutación tienen también un riesgo incrementado de rinitis alérgica (con una OR de 2,64), aunque en este caso es independiente de si tienen eccema o no<sup>55</sup>. Finalmente, en cuanto al desarrollo de alergias alimentarias, se ha demostrado que ser portador de mutaciones en *FLG* confiere un riesgo significativamente superior de sufrir alergia al cacahuete, que es mayor si el paciente sufre DA pero que también existe independientemente de esta (OR global de 5,3, con una OR residual de 3,8 cuando se ajusta para DA)<sup>56</sup>.

**Tabla 3** Trastornos que NO parecen relacionados con mutaciones en *FLG*

<b>Cutáneos</b>
Acné vulgar <sup>95</sup>
Psoriasis vulgar <sup>96,97</sup>
<b>Extracutáneos</b>
Artritis reumatoide y artritis psoriásica <sup>98</sup>
Enfermedad inflamatoria intestinal <sup>99,100</sup>
Sarcoidosis <sup>100</sup>
Alteraciones en la audición <sup>101</sup>

Fuente: Adaptado de Thyssen et al.<sup>51</sup>.

### Papel de las mutaciones en *FLG* en otros trastornos

Desde el descubrimiento de las mutaciones en el gen *FLG*, se han realizado múltiples estudios que han intentado encontrar una posible relación con varias enfermedades cutáneas y extracutáneas, ya sea por asociarse a DA, por tener una base patogénica similar o por compartir el mismo locus de susceptibilidad<sup>15</sup>. En las tablas 2 y 3 se ofrece un resumen de los resultados obtenidos. Dada la alta frecuencia de individuos portadores en la población general, es probable que las mutaciones en *FLG* puedan actuar como un factor modificador en múltiples trastornos, sobre todo en aquellos relacionados con anomalías de la queratinización y de la barrera cutánea<sup>21</sup>.

### Conclusiones

La filagrina es una proteína fundamental para la correcta formación y función de la barrera cutánea. Las mutaciones en el gen *FLG* son las responsables de la IV y confieren un mayor riesgo de desarrollar DA, asma, rinitis alérgica y alergia alimentaria. El descubrimiento de su función ha permitido comprender mejor la patogenia de distintos trastornos que cursan con alteración de la barrera cutánea, y es probable que sus mutaciones influyan en el desarrollo o la gravedad clínica de otras enfermedades dermatológicas. Además, el estudio de sus funciones y de las consecuencias de su déficit puede tener en el futuro importantes implicaciones terapéuticas, al abrir la posibilidad de desarrollar nuevos tratamientos específicos para los trastornos en los que se encuentra alterada.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de intereses.

### Bibliografía

1. Madison KC. Barrier function of the skin: «la raison d'être» of the epidermis. *J Invest Dermatol.* 2003;121:231-41.
2. Sandilands A, Sutherland C, Irvine AD, McLean WH. Filaggrin in the frontline: Role in skin barrier function and disease. *J Cell Sci.* 2009;122:1285-94.

3. Dale BA. Purification and characterization of a basic protein from the stratum corneum of mammalian epidermis. *Biochim Biophys Acta*. 1977;491:193–204.
4. Steinert PM, Cantieri JS, Teller DC, Lonsdale-Eccles JD, Dale BA. Characterization of a class of cationic proteins that specifically interact with intermediate filaments. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1981;78:4097–101.
5. McAleer MA, Irvine AD. The multifunctional role of filaggrin in allergic skin disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;131:280–91.
6. Proksch E, Brandner JM, Jensen J-M. The skin: An indispensable barrier. *Exp Dermatol*. 2008;17:1063–72.
7. Nemes Z, Steinert PM. Bricks and mortar of the epidermal barrier. *Exp Mol Med*. 1999;31:5–19.
8. Menon GK, Grayson S, Elias PM. Ionic calcium reservoirs in mammalian epidermis: Ultrastructural localization by ion-capture cytochemistry. *J Invest Dermatol*. 1985;84:508–12.
9. Lee SH, Elias PM, Proksch E, Menon GK, Mao-Quiang M, Feingold KR. Calcium and potassium are important regulators of barrier homeostasis in murine epidermis. *J Clin Invest*. 1992;89:530–8.
10. Heimall J, Spergel JM. Filaggrin mutations and atopy: Consequences for future therapeutics. *Expert Rev Clin Immunol*. 2012;8:189–97.
11. Kalinin A, Marekov LN, Steinert PM. Assembly of the epidermal cornified cell envelope. *J Cell Sci*. 2001;114:3069–70.
12. Kalinin AE, Kajava AV, Steinert PM. Epithelial barrier function: Assembly and structural features of the cornified cell envelope. *Bioessays*. 2002;24:789–800.
13. Candi E, Schmidt R, Melino G. The cornified envelope: A model of cell death in the skin. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2005;6:328–40.
14. Rawlings AV, Harding CR. Moisturization and skin barrier function. *Dermatol Ther*. 2004;17 Suppl 1:43–8.
15. Brown SJ, McLean WH. One remarkable molecule: Filaggrin. *J Invest Dermatol*. 2012;132:751–62.
16. Gruber R, Elias PM, Crumrine D, Lin T-K, Brandner JM, Hachem J-P, et al. Filaggrin genotype in ichthyosis vulgaris predicts abnormalities in epidermal structure and function. *Am J Pathol*. 2011;178:2252–63.
17. Ali SM, Yosipovitch G. Skin pH: From basic science to basic skin care. *Acta Derm Venereol*. 2013;93:261–7.
18. Barresi C, Stremnitzer C, Mlitz V, Kezic S, Kammeyer A, Ghanadan M, et al. Increased sensitivity of histidinemic mice to UVB radiation suggests a crucial role of endogenous urocanic acid in photoprotection. *J Invest Dermatol*. 2011;131:188–94.
19. Noonan FP, de Fabo EC. Immunosuppression by ultraviolet B radiation: Initiation by urocanic acid. *Immunol Today*. 1992;13:250–4.
20. Walterscheid JP, Nghiem DX, Kazimi N, Nutt LK, McConkey DJ, Norval M, et al. Cis-urocanic acid, a sunlight-induced immunosuppressive factor, activates immune suppression via the 5-HT<sub>2A</sub> receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103:1742–5.
21. Irvine AD, McLean WHI, Leung DYM. Filaggrin mutations associated with skin and allergic diseases. *N Engl J Med*. 2011;365:1315–27.
22. Kezic S, O'Regan GM, Lutter R, Jakasa I, Koster ES, Saunders S, et al. Filaggrin loss-of-function mutations are associated with enhanced expression of IL-1 cytokines in the stratum corneum of patients with atopic dermatitis and in a murine model of filaggrin deficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;129:1031–9, e1.
23. Mischke D, Korge BP, Marenholz I, Volz A, Ziegler A. Genes encoding structural proteins of epidermal cornification and S100 calcium-binding proteins form a gene complex («epidermal differentiation complex») on human chromosome 1q21. *J Invest Dermatol*. 1996;106:989–92.
24. Presland RB, Haydock PV, Fleckman P, Nirunskisiri W, Dale BA. Characterization of the human epidermal profilaggrin gene. Genomic organization and identification of an S-100-like calcium binding domain at the amino terminus. *J Biol Chem*. 1992;267:23772–81.
25. Presland RB, Bassuk JA, Kimball JR, Dale BA. Characterization of two distinct calcium-binding sites in the amino-terminus of human profilaggrin. *J Invest Dermatol*. 1995;104:218–23.
26. Aho S, Harding CR, Lee JM, Meldrum H, Bosko CA. Regulatory role for the profilaggrin N-terminal domain in epidermal homeostasis. *J Invest Dermatol*. 2012;132:2376–85.
27. Ishida-Yamamoto A, Takahashi H, Presland RB, Dale BA, Iizuka H. Translocation of profilaggrin N-terminal domain into keratinocyte nuclei with fragmented DNA in normal human skin and lorcrin keratoderma. *Lab Invest*. 1998;78:1245–53.
28. Yoneda K, Nakagawa T, Lawrence OT, Huard J, Demitsu T, Kubota Y, et al. Interaction of the profilaggrin N-terminal domain with lorcrin in human cultured keratinocytes and epidermis. *J Invest Dermatol*. 2012;132:1206–14.
29. Smith FJD, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, Sandilands A, Campbell LE, Zhao Y, et al. Loss-of-function mutations in the gene encoding filaggrin cause ichthyosis vulgaris. *Nat Genet*. 2006;38:337–42.
30. Chen H, Common JE, Haines RL, Balakrishnan A, Brown SJ, Goh CS, et al. Wide spectrum of filaggrin-null mutations in atopic dermatitis highlights differences between Singaporean Chinese and European populations. *Br J Dermatol*. 2011;165:106–14.
31. Thyssen JP, Godoy-Gijon E, Elias PM. Ichthyosis vulgaris - the filaggrin mutation disease. *Br J Dermatol*. 2013.
32. Mlitz V, Latreille J, Gardinier S, Jdid R, Drouault Y, Hufnagl P, et al. Impact of filaggrin mutations on Raman spectra and biophysical properties of the stratum corneum in mild to moderate atopic dermatitis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2012;26:983–90.
33. Cascella R, Foti Cuzzola V, Lepre T, Galli E, Moschese V, Chini L, et al. Full sequencing of the FLG gene in Italian patients with atopic eczema: Evidence of new mutations, but lack of an association. *J Invest Dermatol*. 2011;131:982–4.
34. Mildner M, Jin J, Eckhart L, Kezic S, Gruber F, Barresi C, et al. Knockdown of filaggrin impairs diffusion barrier function and increases UV sensitivity in a human skin model. *J Invest Dermatol*. 2010;130:2286–94.
35. Thyssen JP, Thuesen B, Huth C, Standl M, Carson CG, Heinrich J, et al. Skin barrier abnormality caused by filaggrin (FLG) mutations is associated with increased serum 25-hydroxyvitamin D concentrations. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;130:1204–7, e2.
36. Sybert VP, Dale BA, Holbrook KA. Ichthyosis vulgaris: Identification of a defect in synthesis of filaggrin correlated with an absence of keratohyaline granules. *J Invest Dermatol*. 1985;84:191–4.
37. Katagiri C, Sato J, Nomura J, Denda M. Changes in environmental humidity affect the water-holding property of the stratum corneum and its free amino acid content, and the expression of filaggrin in the epidermis of hairless mice. *J Dermatol Sci*. 2003;31:29–35.
38. Thyssen JP, Ross-Hansen K, Johansen JD, Zachariae C, Carlsson BC, Linneberg A, et al. Filaggrin loss-of-function mutation R501X and 22824 carrier status is associated with fissured skin on the hands: Results from a cross-sectional population study. *Br J Dermatol*. 2012;166:46–53.
39. Brown SJ, Relton CL, Liao H, Zhao Y, Sandilands A, Wilson IJ, et al. Filaggrin null mutations and childhood atopic eczema: A population-based case-control study. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;121:940–6, e3.
40. De Benedetto A, Kubo A, Beck LA. Skin barrier disruption: A requirement for allergen sensitization? *J Invest Dermatol*. 2012;132:949–63.



41. Johansson SGO, Bieber T, Dahl R, Friedmann PS, Lanier BQ, Lockey RF, et al. Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization, October 2003. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;113:832–6.
42. Zheng T, Yu J, Oh MH, Zhu Z. The atopic march: Progression from atopic dermatitis to allergic rhinitis and asthma. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2011;3:67–73.
43. Spergel JM, Paller AS. Atopic dermatitis and the atopic march. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;112:S118–27.
44. Allen KJ, Dharmage SC. The role of food allergy in the atopic march. *Clin Exp Allergy.* 2010;40:1439–41.
45. Palmer CNA, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, Zhao Y, Liao H, Lee SP, 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.
46. Werner Y, Lindberg M. Transepidermal water loss in dry and clinically normal skin in patients with atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol.* 1985;65:102–5.
47. 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.
48. Weidinger S, Rodríguez E, Stahl C, Wagenpfeil S, Klopp N, Illig T, et al. Filaggrin mutations strongly predispose to early-onset and extrinsic atopic dermatitis. *J Invest Dermatol.* 2007;127:724–6.
49. Fallon PG, Sasaki T, Sandilands A, Campbell LE, Saunders SP, Mangan NE, et al. A homozygous frameshift mutation in the mouse FLG gene facilitates enhanced percutaneous allergen priming. *Nat Genet.* 2009;41:602–8.
50. Oyoshi MK, Murphy GF, Geha RS. Filaggrin-deficient mice exhibit TH17-dominated skin inflammation and permissiveness to epicutaneous sensitization with protein antigen. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;124:485–93, 493.e1.
51. Kawasaki H, Nagao K, Kubo A, Hata T, Shimizu A, Mizuno H, et al. Altered stratum corneum barrier and enhanced percutaneous immune responses in filaggrin-null mice. *J Allergy Clin Immunol.* 2012;129:1538–46, e6.
52. McPherson T, Sherman VJ, Aslam A, Crack L, Chan H, Lloyd-Lavery A, et al. Filaggrin null mutations associate with increased frequencies of allergen-specific CD4+ T-helper 2 cells in patients with atopic eczema. *Br J Dermatol.* 2010;163:544–9.
53. Takai T, Ikeda S. Barrier dysfunction caused by environmental proteases in the pathogenesis of allergic diseases. *Allergol Int.* 2011;60:25–35.
54. Marenholz I, Nickel R, Rüschemdorf F, Schulz F, Esparza-Gordillo J, Kerscher T, et al. Filaggrin loss-of-function mutations predispose to phenotypes involved in the atopic march. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;118:866–71.
55. Weidinger S, O'Sullivan M, Illig T, Baurecht H, Depner M, Rodríguez E, et al. Filaggrin mutations, atopic eczema, hay fever, and asthma in children. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;121:1203–9, e1.
56. Brown SJ, Asai Y, Cordell HJ, Campbell LE, Zhao Y, Liao H, et al. Loss-of-function variants in the filaggrin gene are a significant risk factor for peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127:661–7.
57. Ying S, Meng Q, Corrigan CJ, Lee TH. Lack of filaggrin expression in the human bronchial mucosa. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;118:1386–8.
58. De Benedetto A, Qualia CM, Baroody FM, Beck LA. Filaggrin expression in oral, nasal, and esophageal mucosa. *J Invest Dermatol.* 2008;128:1594–7.
59. Wollenberg A, Bieber T. Proactive therapy of atopic dermatitis—an emerging concept. *Allergy.* 2009;64:276–8.
60. Wollenberg A, Ehmann LM. Long term treatment concepts and proactive therapy for atopic eczema. *Ann Dermatol.* 2012;24:253–60.
61. Garnacho-Saucedo G, Salido-Vallejo R, Moreno-Giménez JC. Atopic dermatitis: Update and proposed management algorithm. *Actas Dermosifiliogr.* 2013;104:4–16.
62. Rodríguez E, Baurecht H, Herberich E, Wagenpfeil S, Brown SJ, Cordell HJ, et al. Meta-analysis of filaggrin polymorphisms in eczema and asthma: Robust risk factors in atopic disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;123:1361–70, e7.
63. Van den Oord RA, Sheikh A. Filaggrin gene defects and risk of developing allergic sensitisation and allergic disorders: Systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2009;339:b2433.
64. Brown SJ, Relton CL, Liao H, Zhao Y, Sandilands A, McLean WHI, et al. Filaggrin haploinsufficiency is highly penetrant and is associated with increased severity of: Further delineation of the skin phenotype in a prospective epidemiological study of 792 school children. *Br J Dermatol.* 2009;161:884–9.
65. Brown SJ, McLean WHI. Eczema genetics: Current state of knowledge and future goals. *J Invest Dermatol.* 2009;129:543–52.
66. Brown SJ, Sandilands A, Zhao Y, Liao H, Relton CL, Meggitt SJ, et al. Prevalent and low-frequency null mutations in the filaggrin gene are associated with early-onset and persistent atopic eczema. *J Invest Dermatol.* 2008;128:1591–4.
67. Stemmler S, Parwez Q, Petrasch-Parwez E, Epplen JT, Hoffjan S. Two common loss-of-function mutations within the filaggrin gene predispose for early onset of atopic dermatitis. *J Invest Dermatol.* 2007;127:722–4.
68. Margolis DJ, Apter AJ, Gupta J, Hoffstad O, Papadopoulos M, Campbell LE, et al. The persistence of atopic dermatitis and filaggrin (FLG) mutations in a US longitudinal cohort. *J Allergy Clin Immunol.* 2012;130:912–7.
69. Jungersted JM, Scheer H, Mempel M, Baurecht H, Cifuentes L, Høgh JK, et al. Stratum corneum lipids, skin barrier function and filaggrin mutations in patients with atopic eczema. *Allergy.* 2010;65:911–8.
70. Henderson J, Northstone K, Lee SP, Liao H, Zhao Y, Pembrey M, et al. The burden of disease associated with filaggrin mutations: A population-based, longitudinal birth cohort study. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;121:872–7, e9.
71. Gao PS, Rafaels NM, Hand T, Murray T, Boguniewicz M, Hata T, et al. Filaggrin mutations that confer risk of atopic dermatitis confer greater risk for eczema herpeticum. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;124:507–13, 513.e1–7.
72. Bisgaard H, Simpson A, Palmer CNA, Bønnelykke K, McLean I, Mukhopadhyay S, et al. Gene-environment interaction in the onset of eczema in infancy: Filaggrin loss-of-function mutations enhanced by neonatal cat exposure. *PLoS Med.* 2008;5:e131.
73. Schuttelaar MLA, Kerkhof M, Jonkman MF, Koppelman GH, Brunekreef B, de Jongste JC, et al. Filaggrin mutations in the onset of eczema, sensitization, asthma, hay fever and the interaction with cat exposure. *Allergy.* 2009;64:1758–65.
74. Cramer C, Link E, Horster M, Koletzko S, Bauer C-P, Berdel D, et al. Elder siblings enhance the effect of filaggrin mutations on childhood eczema: Results from the 2 birth cohort studies LISA-plus and GINIplus. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125:1254–60, e5.
75. Bieber T. Atopic dermatitis. *N Engl J Med.* 2008;358:1483–94.
76. Williams RE, Gibson AG, Aitchison TC, Lever R, Mackie RM. Assessment of a contact-plate sampling technique and subsequent quantitative bacterial studies in atopic dermatitis. *Br J Dermatol.* 1990;123:493–501.
77. Miajlovic H, Fallon PG, Irvine AD, Foster TJ. Effect of filaggrin breakdown products on growth of and protein expression by *Staphylococcus aureus*. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;126:1184–90, e3.

78. Kisich KO, Carspecken CW, Fiéve S, Boguniewicz M, Leung DY. Defective killing of *Staphylococcus aureus* in atopic dermatitis is associated with reduced mobilization of human beta-defensin-3. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;122:62–8.
79. Brauweiler AM, Bin L, Kim BE, Oyoshi MK, Geha RS, Goleva E, et al. Filaggrin-dependent secretion of sphingomyelinase protects against staphylococcal  $\alpha$ -toxin-induced keratinocyte death. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;131:421–7, e2.
80. Cai SC, Chen H, Koh WP, Common JE, van Bever HP, McLean WH, et al. Filaggrin mutations are associated with recurrent skin infection in Singaporean Chinese patients with atopic dermatitis. *Br J Dermatol.* 2012;166:200–3.
81. Oyoshi MK, He R, Kumar L, Yoon J, Geha RS. Cellular and molecular mechanisms in atopic dermatitis. *Adv Immunol.* 2009;102:135–226.
82. Howell MD, Kim BE, Gao P, Grant AV, Boguniewicz M, de Benedetto A, et al. Cytokine modulation of atopic dermatitis filaggrin skin expression. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;124:R7–12.
83. Kim BE, Leung DYM, Boguniewicz M, Howell MD. Loricrin and involucrin expression is down-regulated by Th2 cytokines through STAT-6. *Clin Immunol.* 2008;126:332–7.
84. Brown SJ, Kroboth K, Sandilands A, Campbell LE, Pohler E, Kezic S, et al. Intragenic copy number variation within filaggrin contributes to the risk of atopic dermatitis with a dose-dependent effect. *J Invest Dermatol.* 2012;132:98–104.
85. Ziyab AH, Karmaus W, Holloway JW, Zhang H, Ewart S, Arshad SH. DNA methylation of the filaggrin gene adds to the risk of eczema associated with loss-of-function variants. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2012;27:e420–3.
86. De Jongh CM, Khrenova L, Verberk MM, Calkoen F, van Dijk FJH, Voss H, et al. Loss-of-function polymorphisms in the filaggrin gene are associated with an increased susceptibility to chronic irritant contact dermatitis: A case-control study. *Br J Dermatol.* 2008;159:621–7.
87. Visser MJ, Landeck L, Campbell LE, McLean WHI, Weidinger S, Calkoen F, et al. Impact of atopic dermatitis and loss-of-function mutations in the filaggrin gene on the development of occupational irritant contact dermatitis. *Br J Dermatol.* 2013;168:326–32.
88. Thyssen JP, Johansen JD, Linneberg A, Menné T, Nielsen NH, Meldgaard M, et al. The association between null mutations in the filaggrin gene and contact sensitization to nickel and other chemicals in the general population. *Br J Dermatol.* 2010;162:1278–85.
89. Ross-Hansen K, Menné T, Johansen JD, Carlsen BC, Linneberg A, Nielsen NH, et al. Nickel reactivity and filaggrin null mutations—evaluation of the filaggrin bypass theory in a general population. *Contact Derm.* 2011;64:24–31.
90. Molin S, Vollmer S, Weiss EH, Ruzicka T, Prinz JC. Filaggrin mutations may confer susceptibility to chronic hand eczema characterized by combined allergic and irritant contact dermatitis. *Br J Dermatol.* 2009;161:801–7.
91. Betz RC, Pforr J, Flaquer A, Redler S, Hanneken S, Eigelshoven S, et al. Loss-of-function mutations in the filaggrin gene and alopecia areata: Strong risk factor for a severe course of disease in patients comorbid for atopic disease. *J Invest Dermatol.* 2007;127:2539–43.
92. Liao H, Waters AJ, Goudie DR, Aitken DA, Graham G, Smith FJD, et al. Filaggrin mutations are genetic modifying factors exacerbating X-linked ichthyosis. *J Invest Dermatol.* 2007;127:2795–8.
93. Gruber R, Wilson NJ, Smith FJD, Grabher D, Steinwender L, Fritsch PO, et al. Increased pachyonychia congenita severity in patients with concurrent keratin and filaggrin mutations. *Br J Dermatol.* 2009;161:1391–5.
94. Thyssen JP, Linneberg A, Carlsen BC, Johansen JD, Engkilde K, Hansen T, et al. A possible association between a dysfunctional skin barrier (filaggrin null-mutation status) and diabetes: A cross-sectional study. *BMJ Open.* 2011;1:e000062.
95. Common JEA, Brown SJ, Haines RL, Goh CS, Chen H, Balakrishnan A, et al. Filaggrin null mutations are not a protective factor for acne vulgaris. *J Invest Dermatol.* 2011;131:1378–80.
96. Zhao Y, Terron-Kwiatkowski A, Liao H, Lee SP, Allen MH, Hull PR, et al. Filaggrin null alleles are not associated with psoriasis. *J Invest Dermatol.* 2007;127:1878–82.
97. Thyssen JP, Johansen JD, Carlsen BC, Linneberg A, Meldgaard M, Szecsi PB, et al. The filaggrin null genotypes R501X and 22824 seem not to be associated with psoriasis: Results from general population study and meta-analysis. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2012;26:782–4.
98. Hüffmeier U, Böiers U, Lascorz J, Reis A, Burkhardt H. Loss-of-function mutations in the filaggrin gene: No contribution to disease susceptibility, but to autoantibody formation against citrullinated peptides in early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2008;67:131–3.
99. Van Limbergen J, Russell RK, Nimmo ER, Zhao Y, Liao H, Drummond HE, et al. Filaggrin loss-of-function variants are associated with atopic comorbidity in pediatric inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2009;15:1492–8.
100. Ruether A, Stoll M, Schwarz T, Schreiber S, Fölster-Holst R. Filaggrin loss-of-function variant contributes to atopic dermatitis risk in the population of Northern Germany. *Br J Dermatol.* 2006;155:1093–4.
101. Rodriguez S, Hall AJ, Granell R, McLean WH, Irvine AD, Palmer CN, et al. Carrier status for the common R501X and 22824 filaggrin mutations is not associated with hearing phenotypes in 5,377 children from the ALSPAC cohort. *PLoS ONE.* 2009;4:e5784.