

Omeostasi dello strato corneo umano: importanza della filaggrina e degli induttori della produzione della filaggrina

Paolo U. Giacomoni
Insight Analysis Consulting - Madison, AL - USA
Élan Rose International - Tustin - CA - USA

Un aspetto notevole della fisiologia dell'epidermide si riscontra nell'analisi della strategia di riparazione nello strato corneo: anziché rimuovere i singoli danni, lo strato corneo è sottoposto ad un continuo processo di rinnovamento. Mentre nello strato basale i cheratinociti riparano il DNA e guidano verso i lisosomi le proteine danneggiate, con l'aiuto del sistema della risposta di *shock* termico (*heat shock proteins*), negli strati soprabasali il processo di differenziazione conduce ad uno stato permanente continuo tale che, ogni giorno, lo strato più esterno dello strato corneo che "abbandona" l'epidermide viene rimpiazzato da uno strato basale che "entra" negli strati differenzianti soprabasali.

Nel corso della differenziazione, il materiale genetico dei cheratinociti viene eliminato, il citoscheletro subisce profonde modifiche strutturali e la membrana cellulare serve da sostegno fisico per la sintesi della *cornified envelope* che la rivestirà dall'interno. L'assemblaggio della *cornified envelope* è il risultato dell'azione di varie transglutaminasi, che connettono gli aminogruppi terminali dell'involucrina e delle plakine, generando così una struttura insolubile che verrà in seguito connessa con il citoscheletro. In tappe successive i corpi lipidici lamellari verranno fusi con la membrana cellulare il cui contenuto verrà estromesso e i fosfolipidi della membrana cellulare verranno sostituiti dagli ω -OH-ceramidi. Un'ultima tappa nella differenziazione dei cheratinociti è la sintesi della loricrina. La loricrina, proteina particolarmente ricca in glicina, serina e cisteina, costituisce circa l'80% della massa della *cornified envelope*. La loricrina servirà da substrato per un auto *cross-link* ed anche per essere covalentemente legata a proteine della famiglia delle piccole proteine ricche in prolina (SPRR), formando così oligomeri proteici che finiranno con l'essere connessi con l'impalcatura costituita dal complesso involucrina-plakina (1, 2, 3, 4).

Questo processo è necessario per conferire ai corneociti una certa resilienza fisica e per renderli insolubili in acqua o in detergenti ed impenetrabili a molti corpi e sostanze estranei proteggendo così l'epidermide sottostante. Un altro fenomeno importante nella differenziazione dei cheratinociti è il processo che porta alla loro modifica strutturale. Questo processo è essenzialmente il risultato dell'azione della filaggrina, e non è certamente la sola ragione per cui la filaggrina gioca un ruolo cruciale nella differenziazione dello strato corneo.

La filaggrina (nota anche come "proteina ricca in istidina") è la componente essenziale dei granuli di cheratoialina, visibili nello strato soprabasale che da essi prende il nome (*stratum granulosum*) e che è immediatamente sottostante allo strato corneo (5, 6). L'importanza fisiologica dello *stratum granulosum* fu compresa nel 1968, molti anni prima dell'identificazione della filaggrina medesima, quando Vorhees e i suoi collaboratori notarono l'assenza dei granuli di cheratoialina nell'epidermide psoriatica (7). I granuli di cheratoialina contengono pro-filaggrina, una proteina altamente fosforilata e di alto peso molecolare (~500 kDa) che matura a filaggrina (~35 kDa) attraverso un processo di defosforilazione ATPasico e di degradazione proteolitica per via di proteasi analoghe alla kallikreina. La filaggrina fu così chiamata per via della sua capacità di provocare l'aggregazione dei filamenti cheratinici intermedi (KIF) *in vitro* (8). Unitamente alla tubulina dei microtubuli e all'attina dei microfilamenti, i KIF costituiscono il citoscheletro. Un collasso del citoscheletro potrebbe essere provocato dall'aggregarsi dei filamenti intermedi e cambierebbe la forma della cellula, facendola passare da ellisoide a piatta con i KIF ben allineati e paralleli alla superficie dell'epidermide. Quindi la filaggrina provoca l'appiattimento dei corneociti ed è forse in parte responsabile della digestione di quel materiale genetico che, in sua assenza, viene osservato nei corneociti acantotici dello strato corneo dell'epidermide psoriatica.

La filaggrina è una proteina a rinnovamento rapido: la sua vita media è di circa sei ore ed è completamente digerita fino a lasciare unicamente aminoacidi singoli. La composizione in aminoacidi della filaggrina riflette strettamente la composizione degli aminoacidi liberi trovati nell'epidermide, quando si tenga conto quantitativamente del fatto che l'acido urocanico, la citrullina e l'acido pirrolidone-

carbossilico derivano rispettivamente, dall'istidina, dall'arginina e dall'acido glutammico (9, 10, 11). L'alta concentrazione di aminoacidi idrofili è cruciale per permettere allo strato corneo di trattenere l'acqua e per mantenere la sua flessibilità. Perciò, come fu già intuito dai ricercatori della Vevy Europe nella loro azione pionieristica all'inizio degli anni ottanta (12), il sistema profilaggrina-filaggrina gioca almeno tre ruoli cruciali nella differenziazione dell'epidermide: provoca l'allineamento dei filamenti cheratinici intermedi, controlla il cambiamento morfologico della cellula, e fornisce il *pool* di aminoacidi per mantenere la *texture* dello strato corneo (13).

In favore di queste conclusioni si possono portare i risultati degli studi istologici e biochimici attuati su pazienti con ittiosi. Questi studi sembrano indicare l'esistenza di una relazione causale tra l'assenza di filaggrina e un qualche disordine nell'omeostasi epidermica. L'ittiosi è il più comune fra i disordini ereditari della cheratinizzazione ed è caratterizzata da pelle ruvida e secca con piccole squame.

Studi di microscopia su biopsie di pelle di pazienti affetti da ittiosi hanno rivelato l'assenza, o una forma aberrante, dei granuli di cheratoialina (14, 15) e la colorazione per via immunochimica di simili biopsie ha messo in evidenza l'assenza di filaggrina (14). In concomitanza con questi risultati, la determinazione della sequenza del DNA del gene della filaggrina ha permesso di concludere che una mutazione specifica (chiamata mutazione di perdita di funzione) è la causa dell'ittiosi (15). Altre patologie sono associate a un livello inferiore di filaggrina nello strato granuloso, come per esempio la dermatite atopica dove filaggrina e involucrina sono presenti a tassi notevolmente ridotti (16).

In sé e per sé, l'invecchiamento non è una patologia, ma si trova associato a perdita di benessere generale, come per esempio le manifestazioni di pelle secca e di prurito. Con l'invecchiamento, l'epidermide ha tendenza a diventare secca e squamosa, particolarmente nelle parti inferiori della gamba. L'analisi immunistochemica dell'epidermide del viso e della parte inferiore delle gambe in volontari di varie età ha permesso di mettere in evidenza una notevole diminuzione di filaggrina e di involucrina nella pelle della parte inferiore della gamba di individui anziani (17). Il meccanismo per cui l'accumulo di filaggrina diminuisce con l'età è

stato approfondito da Rinnerthaler e collaboratori, che hanno studiato l'espressione di filaggrina, loricrina, di SPRR e di loricrina a livello trascrizionale, nella pelle non esposta al sole di volontari giovani, di mezza età ed anziani (18). I loro risultati indicano che, rispetto ai giovani, il livello del mRNA delle SPRR aumenta 10 e 100 volte, rispettivamente nei volontari di mezza età ed anziani, e che i mRNA della filaggrina e della loricrina sono presenti a un livello tre volte inferiore negli anziani rispetto ai giovani e ai volontari di mezza età. Rinnerthaler e collaboratori concludono dicendo che l'aumento delle SPRR e la riduzione della loricrina possono influenzare le proprietà meccaniche dello strato corneo, dato che la loricrina è flessibile e insolubile, mentre le SPRR sono ricche in lisina e glutammina e quindi flessibili nella parte esterna e ricche in prolina e rigide nella loro parte interna. In più, la drastica riduzione del tasso di mRNA della filaggrina può essere la ragione della secchezza dell'epidermide e della sua perdita di capacità di trattenere l'acqua (e forse del prurito) riscontrate negli anziani.

Poiché con l'invecchiamento il livello di filaggrina diminuisce, si potrebbe suggerire l'uso di induttori della filaggrina per ovviare alla mancanza di benessere nella pelle degli anziani. Un prodotto capace di aumentare la produzione di filaggrina è il Filagrinol, una combinazione di estratto di polline e delle frazioni non saponificabili dell'olio di soia, dell'olio d'oliva e dell'olio di germe di grano (19), dotata di eccezionale innocuità (20). L'applicazione topica di Filagrinol stimola la maturazione della pro-filaggrina attivando le ATPasi che ne provocano la defosforilazione e inducendo l'incorporazione di istidina nello *stratum granulosum* (21, 22). Come conseguenza di ciò si potrebbe prevedere che l'applicazione topica del Filagrinol aumenti l'idratazione dell'epidermide e il benessere sensoriale cutaneo.

Il Filagrinol, stimolando la sintesi della filaggrina, promuove attraverso la successiva fisiologica degradazione di questa proteina, il rifornimento di quel *pool* di piccole molecole idrosolubili le quali, ricoprendo un ruolo fondamentale nel garantire l'idratazione dell'epidermide, sono state battezzate *Natural Moisturizing Factor* (NMF).

Alla fine degli anni ottanta è stato condotto da Vevy Europe uno studio specifico nel quale è stato valutato sia il grado di idratazione cutanea attraverso

misurazione strumentale, sia le condizioni complessive delle zone trattate attraverso esame sensoriale (23).

Trenta volontari hanno ricevuto un'applicazione topica di Filagrinol all'8% due volte al giorno per 60 giorni. L'idratazione è stata misurata con un corneometro ogni dieci giorni e il suo aumento è stato rispettivamente del 13%, 19%, 26%, 33%, 39% e 44% al giorno 10, 20, 30, 40, 50 e 60 nelle zone trattate con Filagrinol, mentre è rimasto pressoché costante nelle zone trattate con la stessa emulsione priva di Filagrinol. Le condizioni sensoriali cutanee furono determinate clinicamente da esaminatori esperti, su una scala da 1 a 3, per l'aspetto generale, l'idratazione, l'elasticità e la rugosità per ogni individuo, e la media della somma degli indici sensoriali per i trenta volontari venne registrata in funzione del tempo, ogni dieci giorni per 60 giorni. Nella zona trattata con Filagrinol, l'indice sensoriale che era 6.83 all'inizio dello studio, passava a 7.63, 8.18, 8.63, 8.98, 9.50 e 9.73 rispettivamente, al giorno 10, 20, 30, 40, 50 e 60, mentre nella zona trattata con il placebo l'indice sensoriale aumentava impercettibilmente fino a raggiungere il valore massimo 7.23 al sessantesimo giorno. Un vantaggio ulteriore offerto dall'uso del Filagrinol è che la sua somministrazione topica limita in modo notevole la cascata perossidativa successiva all'esposizione alla radiazione ultravioletta solare (24).

Nel loro insieme, tutti i dati ottenuti mediante applicazione topica di Filagrinol su cute umana sembrano indicare che il Filagrinol sia particolarmente idoneo ad essere usato come idratante ed in prodotti per la protezione solare mirati al trattamento della pelle che invecchia.

REFERENZE BIBLIOGRAFICHE

(1) Watkinson A, Harding CR, Rawlings AV. The Cornified Envelope: Its Role in Stratum Corneum Structure and Maturation. In (Leyden JJ and Rawlings AV, Editors) Skin Moisturization. Marcel Dekker Inc, New York 2002, 95-117.

(2) Candi E, Schmidt R, Melino G. The cornified envelope: a model of cell death in the skin. Nature Reviews Molecular Cell Biology 2005; 6:328-340.

- (3) Reichert U, Michel S, Schmidt R. In (Darmon M & Blumenberg M, Editors) The cornified envelope: A Key Structure of Terminally Differentiating Keratinocytes. Academic Press, London 1993.
- (4) Nithya S, Radhika T, Jeddy N. Loricrin - an overview., J Oral Maxillofac Pathol. 2015 Jan-Apr; 19; 1:64-80.
- (5) Fukuyama K, Epstein, WL. A comparative autoradiographic study of keratohyalin granules containing histidine and cysteine. J Ultrastruct Res 1975; 51:314-325.
- (6) Brown SJ, McLean WHI. One remarkable molecule: Filaggrin. J Invest Dermatol. 2012; 132:751-762.
- (7) Vorhees JJ, Chakrabarti SG, Bernstein IA. The metabolism of "histidine-rich" protein in normal and psoriatic keratinization. J Invest Dermatol 1968; 51:344-354.
- (8) Steinert PM, Cantier 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; 78:4097-4101.
- (9) Scott IR, Harding CR, Barrett JG. Histidine Rich proteins of the keratohyalin granules: source of the free amino acids, urocanic acid and pyrrolidone carboxylic acid in the Stratum Corneum. Biochem Biophys Acta 1982; 719:110-117.
- (10) Harding CR, Scott IR. Stratum Corneum Moisturizing Factors. In (Leyden JJ and Rawlings AV, editors) Skin Moisturization. Marcel Dekker Inc, New York, 2002; 61-80.
- (11) Horii I, Kawasaki K, Koyama J, Nakayama Y, Nakajima K, Okazaki K, Seiji M. Histidine-rich proteins as possible origin of free amino acids of *stratum corneum*. Curr Probl Dermatol 1983; 11:301-315.
- (12) Profilaggrina. Lexicon Vevy Europe, 1986; 5:69-71; Struttura e Funzioni della filaggrina. Lexicon Vevy Europe, 1986; 8:101-111.
- (13) Kezic S, Jakasa I. Filaggrin and Skin Barrier Function Curr Probl Dermatol. 2016; 49:1-7.
- (14) Sybert VP, Dale BA, Holbrook KA. *Ichthyosis vulgaris*: identification of a defect in synthesis of filaggrin correlated with the absence of keratohyaline granules. J Invest Dermatol 1985; 84:191-194.

- (15) Smith FJ, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, Sandilands A, Campbell LE, Zhao Y, Liao H, Evans AT, Goudie DR, Lewis-Jones S, Arseculeratne G, Munro CS, Sergeant A, O'Regan G, Bale SJ, Compton JG, DiGiovanna JJ, Presland RB, Fleckman P, McLean WH. Loss-of-function mutations in the gene encoding filaggrin cause *ichthyosis vulgaris*. *Nat. Genet.* 2006; 38: 337-342.
- (16) Seguchi T, Cui CY, Kusuda S, Takahashi M, Aisu K, Tezuka T. Decreased expression of filaggrin in atopic skin. *Arch Dermatol Res* 1996; 288:442-446.
- (17) Tezuka T, Qing J, Saheki M, Kusuda S, Takahashi M. Terminal differentiation of facial epidermis of the aged: immunohistochemical studies. *Dermatology* 1994; 188:21-24.
- (18) Rinnerthaler M, Duschl J, Steinbacher P, Salzmann M, Bischof J, Schuller M, Wimmer H, Peer T, Bauer JW, Richter K. Age-related changes in the composition of the cornified envelope in human skin. *Exp. Dermatol.* 2013; 22:329-335.
- (19) Active Epidermal Moisturization: Filaggrin Modulator from Fractions of vegetable Unsaponifiables. *Lexicon Vevy Europe*, 2011; 1:1-4.
- (20) Studio Farmacotossicologico del Filagrinol. *Lexicon Vevy Europe*, 1987; 4:52-57, 5:78-86, 6:95-100.
- (21) Favre A, Donetti M. Studio istochimico dell'ATPasi dopo applicazione cutanea di Filagrinol. *Lexicon Vevy* 1987; 4:49-51.
- (22) Favre A, Donetti M. Ricerca istochimica dell'istidina dopo applicazione cutanea di Filagrinol. *Lexicon Vevy* 1987; 5:74-77.
- (23) Rialdi G, Hauf E. Evaluation of the effects of Filagrinol on human skin. *Lexicon Vevy* 1988; 3:30-38.
- (24) Rialdi G, Hauf E. Biochemical Evaluation of Filagrinol protection on the skin aspect through time (skin momentum). *Lexicon Vevy Europe* 1988; 2:16-20.