



Universiteit
Leiden
The Netherlands

A breached barrier : analysis of stratum corneum lipids and their role in eczematous patients

Smeden, J. van

Citation

Smeden, J. van. (2013, June 20). *A breached barrier : analysis of stratum corneum lipids and their role in eczematous patients*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/20998>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/20998>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/20998> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Smeden, Jeroen van

Title: A breached barrier : analysis of stratum corneum lipids and their role in eczematous patients

Issue Date: 2013-06-20

Deel I: Introductie

Een van de meest voorkomende huidziekten is constitutioneel eczeem (in de volksmond ook wel atopisch eczeem genoemd). De oorzaak van de ziekte is tot op heden onduidelijk, maar kenmerkend zijn de rode, jeukende plekken – de aangedane huid¹. De rest van de huid ziet er op het oog normaal uit, en wordt de niet-aangedane huid genoemd (zie Figuur 1). De aangedane huid is ontstoken doordat **allergenen** de huid zijn binnengedrongen en daar een ontstekingsreactie in gang hebben gezet, waarbij sprake kan zijn van een atopie: een verhoging van **allergeen-specifiek immunoglobuline-E (IgE)**^{2,3}. Echter, het gebruik van het woord 'atopisch' is met betrekking tot deze ziekte controversieel, omdat een groot deel (tot wel 60%) van de patiënten geen verhoging in IgE laat zien⁴.

De vraag blijft waardoor allergenen de huid kunnen binnendringen. Een belangrijke eigenschap van deze aandoening is droge huid. Dit betekent dat het watergehalte in de huid verlaagd is. Dit watergehalte wordt gereguleerd door onder meer de natuurlijke



Figuur 1: Een kind met constitutioneel eczeem. Herkenbaar zijn de rode plekken (aangedane, rode huid) naast huid dat er op het oog gezond uitziet (niet-aangedane huid).

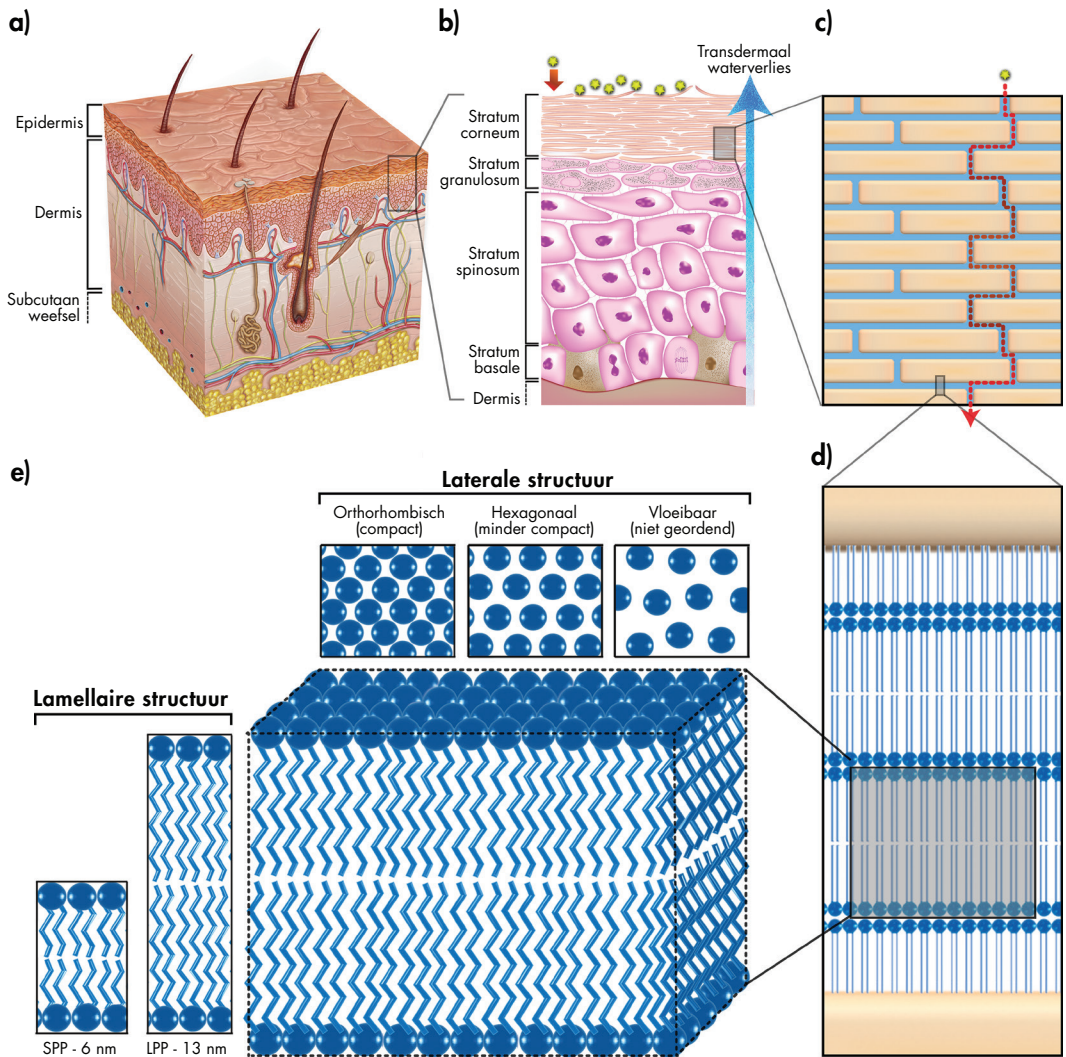
*Roodgedrukte woorden zijn opgenomen in een verklarende woordenlijst

hydratatiefactor van de huid, de **NMF** (natural moisturizing factor)^{5,6}. Deze NMF zijn **metaboliëten** van het eiwit **filaggrine**. Het is bekend dat **mutaties** in het filaggrine-gen een grote risicofactor vormen voor de ontwikkeling van constitutioneel eczeem⁷. Echter, deze mutaties komen bij constitutioneel eczeem maar in 20 tot 50 procent van de patiënten voor, en kan de ziekte daarom niet volledig verklaren^{8,9}. Dit laat het belang zien van andere factoren die een rol spelen bij deze ziekte. Eén van deze factoren is de barrièrefunctie van de huid, welke verstoord is bij mensen met constitutioneel eczeem¹⁰⁻¹⁴.

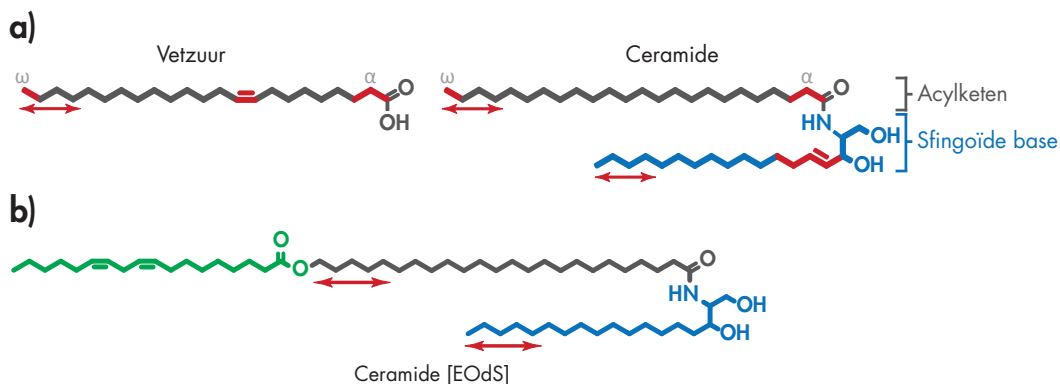
De huidbarrière bevindt zich in de buitenste huidlaag. Dit is de hoornlaag, ook wel het **stratum corneum** genoemd^{15,16}, verder afgekort tot SC. Deze laag bestaat voornamelijk uit dode huidcellen (corneocyten) die worden omsloten door **lipiden**. Deze lipiden vormen een sterk geordende structuur, en voorkomen het binnendringen van allergenen uit de omgeving (zie Figuur 2a-c)¹⁷. Daarnaast beschermt het SC het lichaam tegen overmatig **transdermaal waterverlies**, en dus uitdroging. In constitutioneel eczeem is de barrièrefunctie van het SC verminderd en kunnen allergenen via de lipiden door het SC penetreren en de dieper gelegen huidlagen bereiken^{2,10,13,18}. Dit duidt erop dat de lipiden in het SC een belangrijke functie vervullen voor een goede huidbarrière.

De lipiden in het SC bestaan uit vetzuren, ceramides, en cholesterol^{19,20}. Op moleculair niveau hebben vetzuren en ceramides respectievelijk één en twee lange koolstofketens, zoals uitgelegd in Figuur 3a. Echter, de molecuulstructuur van deze lipiden kan verschillen: vetzuren zijn voornamelijk verzadigd, maar **onverzadigde vetzuren** zijn ook aangetoond^{21,22}. Ceramides bestaan uit een sfinçoïde base en een vetzuurketen (acylketen genoemd). Beide ketens kunnen verschillen in hun chemische structuur, wat resulteert in ceramidesubklassen^{23,24}. Naast deze variaties in functionele groepen hebben zowel vetzuren als ceramides een grote variatie in de ketenlengte. Deze variatie in zowel ketenlengte en functionele groepen is uniek voor lipiden in het SC en resulteert in een karakteristiek geordende structuur van de lipiden: lipidenlagen die geordend op elkaar gestapeld zijn (Figuur 2d,e)^{25,26}. In humaan SC bevinden zich twee soorten gestapelde lipidenlagen (lamellaire lipidenstructuren genoemd), die zich over een afstand van 6 of 13 nanometer herhaalt, respectievelijk de SPP (short periodicity phase) en LPP (long periodicity phase) genoemd²⁷⁻²⁹. Naast deze **lamellaire lipidenstructuur** zijn de lipiden in deze lipidenlagen ook geordend met een bepaalde dichtheid, bekend als de **laterale lipidenstructuur**³⁰⁻³⁴: humane SC-lipiden zijn voornamelijk zeer compact geordend – orthorombisch genoemd. Een klein deel van de lipiden is echter geordend in een minder compacte – hexagonale – lipidenstructuur, of zelfs een structuur die veel minder geordend, en vloeibaar is.

Bekend is dat lipiden in het SC een cruciale rol spelen bij een goed functionerende



Figuur 2: Verklaring van de lipidenstructuur in de huid. **a)** Dwarsdoorsnede van de huid met daarin de opperhuid (epidermis), lederhuid (dermis), en het onderhuids vet- en bindweefsel. **b)** De epidermis is onderverdeeld in een aantal lagen waarvan het SC (hoornlaag) de buitenste is. Deze beschermt het lichaam tegen het binnendringen van allergenen van buitenaf, en voorkomt tevens excessievelijk transepidermaal waterverlies van binnen het lichaam. **c)** Het SC is opgebouwd als een bakstenen muur, bestaande uit corneocyten (bakstenen) omgeven door lipiden (cement). De corneocyten zijn veelal ondoordringbaar, en stoffen van buitenaf dringen de huid daarom binnen via de intercellulaire route (via de lipiden, aangegeven met de rode pijl). **d)** Ingezoomd op de lipiden zijn daar de lipide lamellen: gestapelde lipidelagen met een driedimensionale ordening, weergegeven in **e)**. Ten eerste kunnen de lipiden onderzocht worden naar hun lamellaire structuur (vooraanzicht in de figuur), en inzicht worden verkregen in de lengte van de repeterende afstanden. Daarnaast kan ook de dichtheid van de lipiden bestudeerd worden, de laterale structuur (bovenaanzicht in de figuur). Hiermee kijkt men hoe compact en geordend de lipiden zijn gestructureerd.



Figuur 3: Molecuulstructuur van vetzuren en ceramides. **a)** Vetzuren bestaan uit een lange koolstofketen en een zuurgroep. Daarnaast kunnen vetzuren één of meerdere dubbele bindingen in de koolstofketen hebben en daarmee respectievelijk enkelvoudig onverzadigd of meervoudig onverzadigd zijn. Vetzuren kunnen ook een extra hydroxylgroep hebben op de alpha- of omegapositie in het molecuul (met rood aangegeven). Ceramides bestaan uit twee koolstofketens: een vetzuurketen (acylketen genoemd, aangegeven in grijs) gekoppeld aan een sfingoïde base (in blauw). Ook bij ceramides kan de molecuulstructuur van beide ketens variëren en kan een extra hydroxylgroep op de met rood gemarkeerde plaatsen voorkomen. Daarnaast kunnen zowel vetzuren als ceramides verschillen in de lengte van de koolstofketens (aangegeven met rode pijlen). Vetzuren in het SC kunnen een ketenlengte hebben variërend van ongeveer 16 tot 36 koolstofatomen. Ceramides hebben een totale ketenlengte (beide ketens samen) tussen de 32 en 56 koolstofatomen, uitgezonderd de [EO]-subklasse (zie hieronder). **b)** De molecuulstructuur van de twaalfde, ontdekte ceramide: de ester-gebonden ω -hydroxy acylketen gekoppeld aan een dihydrosfingosine base. Deze behoort tot de [EO]-subklasse, waarin een extra vetzuur vastgekoppeld is (aangegeven in het groen) via een esterbinding aan de vetzuurketen van de ceramide. Dit maakt dat ceramides die behoren tot deze subklasse uitzonderlijk lang zijn, met een totale ketenlengte die ligt tussen de 62 en 78 koolstofatomen. Ook bij deze subklasse komen variaties in ketenlengte voor (aangegeven met rode pijlen).

huidbarrière. Onduidelijk is echter welke rol de samenstelling van de lipiden (en de ordening ervan) spelen in constitutioneel eczeem. Wetenschappelijke studies geven gebrekkige of tegenstrijdige informatie als het gaat om de samenstelling van de lipiden³⁵⁻⁴⁵. Dit komt onder meer doordat de analytische methoden om de samenstelling nauwkeurig te bepalen erg gelimiteerd zijn en vaak weinig gedetailleerde informatie geven. Ook over de mate van ordening van de lipiden is bijna geen informatie beschikbaar. Er is slechts één studie bekend waarin de laterale lipidenstructuur is onderzocht in relatie tot constitutioneel eczeem⁴⁶. Het kleine aantal patiënten in die studie maakt de interpretatie echter beperkt, en tevens geeft dit geen inzicht in de lamellaire structuur van de lipiden. Het gebrek aan kennis over de lipiden in het SC belemmert de ontwikkeling van mogelijke behandelingen en medicatie voor mensen met constitutioneel eczeem. Het uitgangspunt van dit proefschrift is om meer inzicht te verkrijgen over de functie van de SC-lipiden en hun rol in de verstoorde huidbarrière bij mensen met constitutioneel eczeem.

Doelstellingen

Het hoofddoel van dit proefschrift is om in detail de samenstelling en de ordening van de lipiden in het SC te bepalen, en te onderzoeken wat de rol van deze lipiden is met betrekking tot de verminderde huidbarrière in eczeempatiënten. Om dit doel te verwezenlijken moest aan een viertal wetenschappelijke doelstellingen worden voldaan:

1. Het ontwikkelen van een robuuste methode die het mogelijk maakt om in detail de lipiden van het SC **kwantitatief** te analyseren.
2. Het bepalen van de lipidenamenstelling in zowel aangedane als niet-aangedane huid van constitutioneel eczeempatiënten, en deze vergelijken met een gezonde controlegroep.
3. Verklaren hoe veranderingen in de samenstelling van SC-lipiden in constitutioneel eczeempatiënten gerelateerd zijn aan veranderingen in de ordening van de lipiden, en hoe dit effect heeft op de barrièrefunctie van de huid.
4. De relatie onderzoeken tussen de samenstelling en de ordening van de SC-lipiden in patiënten met Netherton syndroom en in **humane huidmodellen**.

Deel II: methodeontwikkeling voor het analyseren van SC-lipiden

Deel II van het proefschrift richt zich op de eerste doelstelling waarin een nieuwe methode is ontwikkeld die het mogelijk maakt om alle lipiden in het SC (de ceramides, vetzuren, en cholesterol) tot in detail te analyseren. Dit is uitgevoerd met behulp van **vloeistofchromatografie** gekoppeld aan **massaspectrometrie** (LC/MS). Met deze techniek is het mogelijk om alle lipidenklassen en subklassen te scheiden en vervolgens te analyseren, evenals de ketenlengte van elk afzonderlijk lipide te bepalen.

De ontwikkeling van deze methode staat beschreven in Hoofdstuk 3, waarin het analyseren van de ceramides centraal staat. In dit hoofdstuk wordt een snelle en robuuste LC/MS methode beschreven die het mogelijk maakt om kwantitatief alle ceramides te analyseren met een geringe **monstervoorbewerking**. De ongebruikelijke combinatie van **normale fase LC** met **atmosferische druk chemische ionisatie (APCI) MS** bleek een uitstekende keus voor de analyse van ceramides, aangezien alle subklassen en ketenlengtes afdoende werden gescheiden en makkelijk konden worden gedetecteerd. In humaan SC werden alle 11 tot dusverre bekende ceramidesubklassen gedetecteerd. Daarnaast werden onbekende subklassen ontdekt. Met behulp van **hoge-resolutie MS** en door middel van **fragmentatie-MS** (MS/MS) werd een twaalfde ceramide-subklasse geïdentificeerd: Ceramide [EOds] (ester-gebonden ω -hydroxy acylketen gekoppeld aan een dihydrosfingosine base; zie Figuur 3b). De methode bleek niet alleen succesvol in het

analyseren van *ex-vivo*huid, maar ook voor SC verkregen door middel van tape-strippen en SC geïsoleerd uit humane huidmodellen.

De methodeontwikkeling van de andere twee lipidenklassen, de vetzuren en cholesterol, is beschreven in Hoofdstuk 4. Hierin wordt eerst de analyse van vetzuren beschreven. Door gebruik te maken van *omgekeerde fase LC* in combinatie met APCI-MS konden vetzuren worden gescheiden en gedetecteerd. Toevoeging van chloroform verbeterde in sterke mate de *ionisatie* en leidde tot de formatie van stabiele *chloride-adducten*. Een kwantitatief *validatieprotocol* liet zien dat de methode robuust, reproduceerbaar, gevoelig en snel is, terwijl *ionsuppressie* verwaarloosbaar klein bleek. Deze methode is daarom zeer geschikt voor de analyse van SC-vetzuren, en kan gecombineerd worden met de methode voor de analyse van ceramides beschreven in Hoofdstuk 3, omdat dezelfde ionisatiebron (APCI) is gebruikt. Deze methode voor het analyseren van ceramides werd op enkele punten aangepast, waardoor cholesterol ook gedetecteerd en kwantitatief geanalyseerd kan worden. De gecombineerde methode maakt het nu mogelijk om alle belangrijke lipiden (ceramides, vetzuren, en cholesterol) in het SC gezamenlijk te analyseren. Het laatste onderdeel van Hoofdstuk 4 beschrijft hoe de methode gebruikt kan worden voor SC afkomstig van: 1) *ex-vivo*huid; 2) *in-vivo*huid verkregen met behulp van tape-strippen; 3) humane huidmodellen, en; 4) varkenshuid. De verschillende soorten huid laten tal van verschillen zien in de lipidenprofielen van zowel de ceramides als de vetzuren.

Nadat de LC/MS-methode ontwikkeld was, is deze toegepast in een aantal studies waarin de rol van deze lipiden op de barrièrefunctie van de huid werd onderzocht. Deze studies worden beschreven in Deel III en IV.

Deel III: Samenstelling van de sc-lipiden in constitutioneel eczeem, en de rol van deze lipiden voor de barrièrefunctie van de huid.

Met behulp van de ontwikkelde LC/MS-methode is de samenstelling van de lipiden bepaald in patiënten met constitutioneel eczeem onderzocht, en vergeleken met de samenstelling in gezonde vrijwilligers (controle-groep). Daarnaast is de relatie tussen de samenstelling en de ordening van deze lipiden onderzocht, en hoezeer de lipiden betrokken zijn bij de verminderde huidbarrière in constitutioneel eczeem.

De eerste, verkennende studie in patiënten met constitutioneel eczeem is beschreven in Hoofdstuk 5. Hierin is de samenstelling van de ceramideklassen bepaald in 6 patiënten en vergeleken met een controlegroep van 6 gezonde vrijwilligers. In dit hoofdstuk wordt enkel de lipidenamenstelling besproken van niet-aangedane huid. Door middel van het tape-strippen van de onderarmen werd SC verkregen. Daarnaast werden *huidbiopten* afgenomen om met behulp van *röntgen-diffractie* (SAXD) de lamellaire lipidenstructuur

te onderzoeken. Uit dit onderzoek blijkt dat de SC-lipiden van patiënten met constitutioneel eczeem een veranderde ceramidesamenstelling hebben. Evenals bij de gezonde controlegroep, zijn alle 12 ceramidesubklassen aanwezig. Echter, de onderlinge verhouding in subklassen verschilt: Percentueel gezien hebben patiënten significant minder ceramides die behoren tot de [EO]-subklassen. Deze worden acylceramides genoemd en hebben een uitzonderlijk lange koolstofketen, zoals uitgelegd in Figuur 3b. Daarnaast werd duidelijk dat patiënten met de grootste afname in deze acylceramides ook de grootste afwijkingen hadden in de lamellaire structuur van de lipiden. Hieruit blijkt dat er een relatie bestaat tussen de ordening en de samenstelling van de ceramides.

De resultaten beschreven in Hoofdstuk 5 vormden het uitgangspunt voor een uitvoerige studie in 28 patiënten met constitutioneel eczeem en een controlegroep van 14 gezonde vrijwilligers, beschreven in Hoofdstuk 6. In deze studie is de ceramidesamenstelling bepaald en daarnaast de ordening van de SC-lipiden onderzocht: door gebruik te maken van SAXD werd informatie verkregen over de lamellaire structuur, terwijl de laterale ordening onderzocht is met behulp van **Fourier transform infrarood spectroscopie (FTIR)**. Ook werd de rol van de lipiden in relatie tot huidbarrière en het klinisch ziektebeeld onderzocht. Omdat mutaties in het filaggrine-gen een belangrijk risicofactor vormen voor de ontwikkeling van constitutioneel eczeem, is ook de relatie tussen dit gen en de samenstelling en ordening van de SC-lipiden onderzocht. Uit de resultaten kwamen een aantal opvallende aspecten naar voren. Allereerst blijkt dat SC van patiënten met constitutioneel eczeem een verhoogd gehalte hebben aan ceramides met een korte ketenlengte, in het bijzonder ceramides met een ketenlengte van (slechts) 34 koolstofatomen. Daarnaast blijkt het gehalte aan acylceramides verlaagd te zijn in patiënten. Deze twee veranderingen veroorzaken een verlaging van de gemiddelde ketenlengte van ceramides in patiënten met constitutioneel eczeem. Ook leiden deze veranderingen tot een andere ordening van de lipiden: Uit de laterale lipidenstructuur blijkt dat een groter deel van de lipiden geordend is in een minder compacte (hexagonale) structuur. Daarnaast laat de lamellaire ordening zien dat de afstand waarover de structuur zich herhaalt kleiner is. Alle bovengenoemde afwijkingen in samenstelling en ordening van lipiden gingen gepaard met een verminderde barrièrefunctie van de huid en correleerden daarnaast ook met de mate waarin de ziekte zich manifesteert in deze patiënten.

Uit deze studie, waar de ceramide samenstelling en de lipidenordening in het SC centraal staat, blijkt dat de veranderingen in de lipiden een zeer belangrijk aspect vormen voor de verstoorde huidbarrière in constitutioneel eczeem. Voor het eerst werd aangetoond dat met name de ketenlengte van de totale ceramideklassen een rol spelen in de verminderde

barrièrefunctie. Naast ceramides zijn vetzuren een andere belangrijke SC-lipidenklasse. Bovendien zijn vetzuren essentieel voor de **biosynthese** van ceramides, en veranderingen in vetzuurketenlengte zou mogelijk ten grondslag kunnen liggen aan de verandering in ketenlengte van de ceramides.

Omdat tot dusverre de ketenlengte van de vetzuren in het SC van patiënten met constitutioneel eczeem niet onderzocht is, werd deze lipidenklasse ook bepaald. Hierbij zijn zowel verzadigde, onverzadigde, en hydroxyvetzuren geanalyseerd. Deze studie is beschreven in Hoofdstuk 7, waarin de lipidensamenstelling in zowel aangedane als niet-aangedane eczeemhuid is onderzocht. Tevens werd de correlatie tussen veranderingen in de ketenlengte van de vetzuursamenstelling en ceramidesamenstelling bestudeerd. Daarnaast is onderzocht hoe veranderingen in de lipidensamenstelling kunnen bijdragen aan veranderingen in de ordening van de lipiden, en zo de barrièrefunctie van de huid kunnen verminderen. Het bleek dat in het SC van patiënten met constitutioneel eczeem een verhoogde hoeveelheid aanwezig is van onverzadigde vetzuren ten koste van **hydroxyvetzuren**. Daarnaast was er een verschuiving te zien in de vetzuurketenlengte: patiënten hadden een verhoging aan vetzuren met kortere ketens en een verlaging van vetzuren met lange ketens. Deze veranderingen waren al aanwezig in niet-aangedane huid, maar komen duidelijker naar voren in aangedane huid. De kortere vetzuurketenlengte correleert met een verkorte ketenlengte voor de ceramides. Dit bevestigt de hypothese dat de vetzuren en ceramides een gedeeltelijk gezamenlijke biosynthese hebben. De ketenlengte van de lipiden – zowel de vetzuren als de ceramides – blijkt sterk geassocieerd te zijn met de ordening van de lipiden: een verhoging in de hoeveelheid lipiden met een kortere ketenlengte leidt tot een minder compacte, hexagonale, lipidenstructuur. Daarentegen dragen langere ketenlengtes bij aan een compactere, orthorombische, ordening. Ook werd in dit hoofdstuk aangetoond dat een minder compacte lipidenstructuur samenvalt met verminderde huidbarrièrefunctie. Dit was zeer duidelijk te zien in aangedane huid, maar al waarneembaar in niet-aangedane huid.

Zowel in Hoofdstuk 6 als 7 wordt het effect van mutaties in het filaggrine-gen op de lipiden beschreven. Ook de NMF, metaboliëten van filaggrine, worden meegenomen in het onderzoek omdat deze een belangrijke rol spelen in de hydratatie van de huid en zorgen voor de juiste **pH** van het SC. Zowel de lipidensamenstelling als de ordening laten een duidelijk verband zien met de NMF: Patiënten met een sterker afwijkend lipidenprofiel laten ook een sterkere afname zien in de hoeveelheid NMF in het SC. Daarentegen is er geen enkele correlatie gevonden met mutaties in het filaggrine-gen. Deze discrepantie laat zien dat tussen het filaggrine-**genotype** en de filaggrine-metaboliëten andere factoren een belangrijke rol spelen (zoals filaggrine-**expressie**), en maakt duidelijk dat onderzoek naar

filaggrine op **fenotypisch** niveau naast dat van filaggrine genotypering erg belangrijk is.

Uit de studies beschreven in de voorgaande hoofdstukken blijkt dat de samenstelling van de lipiden – en de daaruitvoortkomende ordening – een belangrijke rol spelen in de verminderde barrièrefunctie van het SC in patiënten met constitutioneel eczeem. Een laatste studie in deze patiëntengroep was gericht om het effect van de totale hoeveelheid aan lipiden in het SC op de barrièrefunctie te onderzoeken. Om hierin inzicht te verkrijgen kan men het drooggewicht van het SC vergelijken met de **lipide/eiwit-ratio**, verkregen via **Ramanspectroscopie**. Dit onderzoek is beschreven in Hoofdstuk 8, en laat zien dat het drooggewicht van het SC nauwelijks veranderd is in patiënten met constitutioneel eczeem ten opzichte van de gezonde controlegroep. De lipide/eiwit-ratio was daarentegen wel significant afgenomen in eczeempatiënten, zowel in aangedane huid als – in mindere mate – in niet-aangedane huid. Ook deze veranderingen correleren met een verminderde huidbarrière in de patiëntengroep. De resultaten impliceren dat de hoeveelheid lipiden binnen het SC (en niet de hoeveelheid SC) een belangrijke rol spelen bij de verstoorde huidbarrière in constitutioneel eczeem.

Samenvattend: de studies beschreven in Deel III van dit proefschrift illustreren het belang van de lipiden voor de verstoorde huidbarrière in patiënten met constitutioneel eczeem. Deze conclusies vormden de basis om de lipiden van andere huidsoorten te onderzoeken waarin eveneens sprake is van een verminderde huidbarrière. Dit is uitvoerig beschreven in Deel IV.

Deel IV: Onderzoek naar SC-lipiden afkomstig van andere huidsoorten met een verminderde huidbarrière

In Deel III is een sterke relatie tussen de lipidentelling, de lipidenstructuur, en een verminderde huidbarrière in patiënten met constitutioneel eczeem beschreven. Daarom werd besloten om ook SC te onderzoeken van patiënten met Netherton syndroom en humane huidmodellen. Van beide is bekend dat er sprake is van een verminderde barrièrefunctie van de huid, maar informatie over de SC-lipiden is er niet of nauwelijks.

Hoofdstuk 9 beschrijft de samenstelling en ordening van de SC-lipiden in 8 patiënten met Netherton syndroom, een zelfdame en zeer ernstige huidziekte die veel gelijkenissen vertoont met constitutioneel eczeem. Het syndroom wordt veroorzaakt door mutaties in het **SPINK5** gen. Dit gen codeert voor het eiwit **LEKTI**, een specifieke **proteaseremmer**. Bij patiënten is er geen of nauwelijks expressie van dit eiwit, wat leidt tot een verhoogde activiteit van **epidermale proteases** en daardoor extreme schilfering van het SC. De barrièrefunctie van de huid is dan ook ernstig verstoord bij mensen die lijden aan Netherton syndroom. Het doel van dit onderzoek was om te bepalen of er

afwijkingen zijn in de samenstelling en de ordening van de lipiden in het SC van deze patiënten. Er is nagenoeg geen informatie bekend over de lipideneigenschappen van het SC van deze patiënten. Uit het door ons uitgevoerde onderzoek blijkt dat patiënten met Netherton syndroom een lipidenprofiel hebben die veel overeenkomsten vertoont met constitutioneel eczeem: ten opzichte van de controlegroep is de ketenlengteverdeling van de vetzuren verschoven naar kortere ketens, en tevens is er een verhoging in het aantal onverzadigde vetzuren. Ook is het gehalte aan ceramides met een korte keten verhoogd en is er in een aantal patiënten een drastische verlaging van ceramides met een zeer lange keten (acylceramides). Naast deze overeenkomsten met constitutioneel eczeem zijn er in patiënten met Netherton syndroom hoge gehalten aan onverzadigde ceramides gemeten. De veranderingen in de samenstelling van de lipiden komt overeen met een verandering in de ordening ervan: zowel de lamellaire als de laterale structuur lieten significante veranderingen zien. Het ligt voor de hand dat de bovengenoemde veranderingen in lipidenstructuur en lipidenstructuur bijdragen aan de verminderde barrièrefunctie van de huid bij deze patiënten.

Hoofdstuk 10 beschrijft een studie waarin de SC-lipiden van vier verschillende (humane) huidmodellen onderzocht is. Deze gekweekte huid afkomstig van geïsoleerde huidcellen lijkt in veel opzichten op de eigenschappen van menselijke huid, maar vertoont desalniettemin een verminderde huidbarrière en een afwijkende lipidenstructuur. Om de oorzaak van deze afwijkingen in huidmodellen te achterhalen, is de samenstelling van de vetzuren en ceramides geanalyseerd. Uit de resultaten blijkt dat in alle huidmodellen dezelfde 12 ceramidesubklassen aanwezig zijn als in humaan SC. Echter, ceramides met kortere koolstofketens zijn significant verhoogd ten opzichte van humaan SC. Daarnaast zijn in de huidmodellen ook onverzadigde ceramides aanwezig. Deze zijn nooit eerder waargenomen in humaan SC, uitgezonderd de patiënten met Netherton syndroom. Ook bleek de totale hoeveelheid vetzuren drastisch verlaagd, en vertonen de huidmodellen een verhoogde hoeveelheid onverzadigde vetzuren ten opzichte van humaan SC. Dit laatste kan verklaard worden door een verhoogde expressie van het enzym stearoyl-CoA desaturase (SCD), het enzym dat verzadigde vetzuren omzet tot onverzadigde vetzuren.

Deel V: Conclusies

Uit de studies beschreven in dit proefschrift blijkt dat lipiden in het SC een cruciale rol spelen in de barrièrefunctie van de huid. Uit studies in patiënten met constitutioneel eczeem en Netherton syndroom blijkt dat veranderingen in de samenstelling van de lipiden een negatief effect hebben op de lamellaire en laterale lipidenstructuur. In het bijzonder de ketenlengte van de lipiden blijkt uitstekend te correleren met de ordening

van de lipiden: kortere vetzuur- en ceramideketenlengtes dragen bij aan een minder compacte, hexagonale, lipidenordening, terwijl langere lipidenketens resulteren in een meer compacte, orthorombische, lipidenstructuur.

Uit de studies blijkt ook dat acylceramides (ceramides met een zeer lange koolstofketen, behorende tot de [EO] subklasse) essentieel zijn voor een lange periodiceitsfase (LPP) in de lamellaire lipidenstructuur. De aanwezigheid van deze LPP heeft een positieve bijdrage op de barrièrefunctie van de huid. Het gebruik van LC/MS als analytische methode bleek essentieel voor deze bevindingen, omdat geen enkele andere methode tot op heden alle SC-lipiden en de ketenlengtes ervan kan analyseren. Daarnaast is de gevoeligheid van massaspectrometrie ongeëvenaard, waardoor de hoeveelheid huidmateriaal die nodig is voor analyse zeer beperkt blijft. Hierdoor was het mogelijk om lipiden uit het SC te verkrijgen op een non-invasieve manier door middel van tape-strippen.

Het SC van patiënten met constitutioneel eczeem, Netherton syndroom, en van huidmodellen laten allemaal dezelfde soort veranderingen zien in hun lipiden samenstelling: een verkorte ketenlengte in de lipiden en een verhoging van het gehalte aan onverzadigde lipiden. Een sterkere afwijking in de lipiden samenstelling – zoals aangedane huid in constitutioneel eczeem of huid van patiënten met Netherton syndroom – leidt tot een sterkere afwijking in de ordening van de lipiden en een ernstigere verstoring van de huidbarrière.

Uit deze studies blijkt dat er een duidelijk verband is tussen de samenstelling van de vetzuren en de ceramides: zowel de ketenlengte als de hoeveelheid onverzadigde lipiden correleert voor beide lipidenklassen. Deze bevinding is biologisch gezien relevant, omdat dit de hypothese ondersteunt dat vetzuren en ceramides in het SC een overlappende biosynthese hebben^{47,48}. Ook is de bevinding van klinische waarde, omdat het impliceert dat de ceramidesamenstelling gedeeltelijk hersteld kan worden door het normaliseren van de vetzuursamenstelling.

Tevens is er meer inzicht verkregen in het epidermaal lipidenmetabolisme: Allereerst suggereren de kortere vetzuurketenlengtes – waargenomen in constitutioneel eczeem, Netherton syndroom, en de huidmodellen – dat de verlenging (**elongatie**) van vetzuurketens verstoord is⁴⁹; Ten tweede laten de veranderingen in de relatieve hoeveelheid van bepaalde ceramidesubklassen zien dat de enzymen die betrokken zijn bij de synthese van deze subklassen meer- of minder actief zijn. Twee enzymen die wellicht deels ten grondslag liggen aan dit veranderde lipidenmetabolisme zijn **β-glucocerebrosidase** en **sphingomyelinase**. Beiden zijn betrokken bij de omzetting van ceramide-**precursors** naar hun uiteindelijke ceramidestructuur⁵⁰⁻⁵³. Beide enzymen hebben echter niet dezelfde **affiniteit** voor alle precursors, en verandering in de activiteit van één van deze enzymen kan deels verklaren

waarom bepaalde ceramidesubklassen verhoogd zijn ten koste van andere subklassen⁵⁴.

De studies in constitutioneel eczeempatiënten geven een beter inzicht in de rol van filaggrine en NMF met betrekking tot de lipiden in het SC en de barrièrefunctie van de huid. Filaggrine op fenotypisch en metabolisch (NMF) niveau zijn hier meer aan gerelateerd dan op het genotypisch (DNA) niveau. Dit ondersteunt de hypothese dat veranderingen in filaggrine-expressie een belangrijke factor vormen in constitutioneel eczeem^{55,56}.

Concluderend, de studies die beschreven zijn in dit proefschrift dragen bij aan meer kennis omtrent de barrièrefunctie van het SC vanuit zowel een biofysisch perspectief (de relatie tussen lipidenamenstelling, lipidenstructuur, en barrièrefunctie van de huid), maar ook vanuit een klinisch perspectief, namelijk het belang van de SC-lipiden in relatie tot constitutioneel eczeem en Netherton syndroom. Toekomstig onderzoek zou zich kunnen richten op het herstellen van de huidbarrière bij mensen met (constitutioneel) eczeem, of meer inzicht verschaffen naar de oorzaak en de mechanismen van de ziekte. Daarnaast kan men ook breder kijken door fundamenteel onderzoek te verrichten naar het lipidenmetabolisme van de huid, of de mogelijkheden benutten die liggen op het gebied van de analytische technieken als LC/MS.

References

- 1 Leung DY, Bieber T. Atopic dermatitis. *Lancet* 2003; 361: 151-60.
- 2 Oyoshi MK, He R, Kumar L *et al*. Cellular and molecular mechanisms in atopic dermatitis. *Adv Immunol* 2009; 102: 135-226.
- 3 Wollenberg A, Rawer HC, Schaubert J. Innate immunity in atopic dermatitis. *Clin Rev Allergy Immunol* 2011; 41: 272-81.
- 4 Flohr C, Johansson SG, Wahlgren CF *et al*. How atopic is atopic dermatitis? *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114: 150-8.
- 5 Voegeli D. The role of emollients in the care of patients with dry skin. *Nurs Stand* 2007; 22: 62, 4-8.
- 6 Sandilands A, O'Regan GM, Liao H *et al*. Prevalent and rare mutations in the gene encoding filaggrin cause ichthyosis vulgaris and predispose individuals to atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 1770-5.
- 7 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.
- 8 Jakasa I, Koster ES, Calkoen F *et al*. Skin barrier function in healthy subjects and patients with atopic dermatitis in relation to filaggrin loss-of-function mutations. *J Invest Dermatol* 2011; 131: 540-2.
- 9 Akiyama M. FLG mutations in ichthyosis vulgaris and atopic eczema: spectrum of mutations and population genetics. *Br J Dermatol* 2010; 162: 472-7.
- 10 Elias PM, Hatano Y, Williams ML. Basis for the barrier abnormality in atopic dermatitis: Outside-inside-outside pathogenic mechanisms. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 1337-43.
- 11 Elias PM. Barrier repair trumps immunology in the pathogenesis and therapy of atopic dermatitis. *Drug Discov Today Dis Mech* 2008; 5: e33-e8.
- 12 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 Dermato-Venereologica* 1995; 75: 429-33.
- 13 Elias PM, Schmutz M. Abnormal skin barrier in the etiopathogenesis of atopic dermatitis. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology* 2009; 9: 437-46.
- 14 Yoshiike T, Aikawa Y, Sindhananda J *et al*. Skin barrier defect in atopic dermatitis: increased permeability of the stratum corneum using dimethyl sulfoxide and theophylline. *J Dermatol Sci* 1993; 5: 92-6.
- 15 Elias PM, Choi EH. Interactions among stratum corneum defensive functions. *Exp Dermatol* 2005; 14: 719-26.
- 16 Elias PM. Stratum corneum defensive functions: An integrated view. *Journal of Investigative Dermatology* 2005; 125: 183-200.
- 17 Bouwstra JA, Dubbelaar FER, Gooris GS *et al*. The lipid organisation in the skin barrier. *Acta Dermato-Venereologica* 2000; 23-30.
- 18 Elias PM, Steinhoff M. "Outside-to-Inside" (and now back to "Outside") pathogenic mechanisms in atopic dermatitis. *Journal of Investigative Dermatology* 2008; 128: 1067-70.
- 19 Wertz P, Downing D, Goldsmith L. Physiology, Biochemistry and Molecular Biology of the Skin. *Oxford University Press; Oxford* 1991.
- 20 Bouwstra JA, Gooris GS, Cheng K *et al*. Phase behavior of isolated skin lipids. *J Lipid Res* 1996; 37: 999-1011.
- 21 Ansari MN, Nicolaides N, Fu HC. Fatty acid composition of the living layer and stratum corneum lipids of human sole skin epidermis. *Lipids* 1970; 5: 838-45.
- 22 Norlen L, Nicander I, Lundsjo A *et al*. A new HPLC-based method for the quantitative analysis of inner stratum corneum lipids with special reference to the free fatty acid fraction. *Arch Dermatol Res* 1998; 290: 508-16.
- 23 Motta S, Monti M, Sesana S *et al*. Ceramide composition of the psoriatic scale. *Biochim Biophys Acta* 1993; 1182: 147-51.
- 24 Masukawa Y, Narita H, Shimizu E *et al*. Characterization of overall ceramide species in human stratum corneum. *J Lipid Res* 2008; 49: 1466-76.
- 25 Madison KC, Swartzendruber DC, Wertz PW *et al*. Presence of intact intercellular lipid lamellae in the upper layers of the stratum corneum. *J Invest Dermatol* 1987; 88: 714-8.
- 26 Bouwstra JA, Gooris GS, van der Spek JA *et al*. Structural investigations of human stratum corneum by small-angle X-ray scattering. *J Invest Dermatol* 1991; 97: 1005-12.
- 27 Groen D, Gooris GS, Bouwstra JA. New insights into the stratum corneum lipid organization by X-ray diffraction analysis. *Biophys J* 2009; 97: 2242-9.
- 28 McIntosh TJ, Stewart ME, Downing DT. X-ray diffraction analysis of isolated skin lipids: reconstitution of intercellular lipid domains. *Biochemistry* 1996; 35: 3649-53.
- 29 Bouwstra J, Pilgram G, Gooris G *et al*. New aspects of the skin barrier organization. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 2001; 14 Suppl 1: 52-62.
- 30 de Jager MW, Gooris GS, Dolbnya IP *et al*. The phase behaviour of skin lipid mixtures based on synthetic ceramides. *Chem Phys Lipids* 2003; 124: 123-34.
- 31 Bouwstra JA, Gooris GS, Dubbelaar FE *et al*. Phase behavior of lipid mixtures based on human ceramides: coexistence of crystalline and liquid phases. *J Lipid Res* 2001; 42: 1759-70.
- 32 Goldsmith LA, Baden HP. *Uniquely oriented epidermal lipid*. *Nature* 1970; 225: 1052-3.
- 33 Damien F, Boncheva M. The extent of orthorhombic lipid phases in the stratum corneum determines the barrier efficiency of human skin in vivo. *J Invest Dermatol* 2010; 130: 611-4.
- 34 Pilgram GS, Engelsma-van Pelt AM, Bouwstra JA *et al*. Electron diffraction provides new information on human stratum corneum lipid organization studied in relation to depth and temperature. *J Invest Dermatol* 1999; 113: 403-9.
- 35 Bleck O, Abeck D, Ring J *et al*. Two ceramide subfractions detectable in Cer(AS) position by HPTLC in skin surface lipids of non-lesional skin of atopic eczema. *J Invest Dermatol* 1999; 113: 894-900.
- 36 Farwanah H, Raith K, Neubert RH *et al*. Ceramide profiles of the uninvolved skin in atopic dermatitis and psoriasis are comparable to those of healthy skin. *Arch Dermatol Res* 2005; 296: 514-21.

- 37 Angelova-Fischer I, Mannheimer AC, Hinder A *et al.* Distinct barrier integrity phenotypes in filaggrin-related atopic eczema following sequential tape stripping and lipid profiling. *Exp Dermatol* 2011; 20: 351-6.
- 38 Ishibashi M, Arikawa J, Okamoto R *et al.* Abnormal expression of the novel epidermal enzyme, glucosylceramide deacylase, and the accumulation of its enzymatic reaction product, glucosylsphingosine, in the skin of patients with atopic dermatitis. *Lab Invest* 2003; 83: 397-408.
- 39 Matsumoto M, Umemoto N, Sugiura H *et al.* Difference in ceramide composition between "dry" and "normal" skin in patients with atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol* 1999; 79: 246-7.
- 40 Di Nardo A, Wertz P, Giannetti A *et al.* Ceramide and cholesterol composition of the skin of patients with atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol* 1998; 78: 27-30.
- 41 Jungersted JM, Scheer H, Mempel M *et al.* Stratum corneum lipids, skin barrier function and filaggrin mutations in patients with atopic eczema. *Allergy* 2010; 65: 911-8.
- 42 Imokawa G, Abe A, Jin K *et al.* Decreased level of ceramides in stratum corneum of atopic dermatitis: an etiologic factor in atopic dry skin? *J Invest Dermatol* 1991; 96: 523-6.
- 43 Holleran WM, Takagi Y, Uchida Y. Epidermal sphingolipids: metabolism, function, and roles in skin disorders. *FEBS Lett* 2006; 580: 5456-66.
- 44 Takigawa H, Nakagawa H, Kuzukawa M *et al.* Deficient production of hexadecenoic acid in the skin is associated in part with the vulnerability of atopic dermatitis patients to colonization by *Staphylococcus aureus*. *Dermatology* 2005; 211: 240-8.
- 45 Macheleidt O, Kaiser HW, Sandhoff K. Deficiency of epidermal protein-bound omega-hydroxyceramides in atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2002; 119: 166-73.
- 46 Pilgram GS, Vissers DC, van der Meulen H *et al.* Aberrant lipid organization in stratum corneum of patients with atopic dermatitis and lamellar ichthyosis. *J Invest Dermatol* 2001; 117: 710-7.
- 47 Ohno Y, Suto S, Yamanaka M *et al.* ELOVL1 production of C24 acyl-CoAs is linked to C24 sphingolipid synthesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107: 18439-44.
- 48 Uchida Y. The role of fatty acid elongation in epidermal structure and function. *Dermatoendocrinol* 2011; 3: 65-9.
- 49 Guillou H, Zadravec D, Martin PG *et al.* The key roles of elongases and desaturases in mammalian fatty acid metabolism: Insights from transgenic mice. *Prog Lipid Res* 2010; 49: 186-99.
- 50 Holleran WM, Ginns EI, Menon GK *et al.* Consequences of beta-glucocerebrosidase deficiency in epidermis. Ultrastructure and permeability barrier alterations in Gaucher disease. *J Clin Invest* 1994; 93: 1756-64.
- 51 Holleran WM, Takagi Y, Menon GK *et al.* Processing of epidermal glucosylceramides is required for optimal mammalian cutaneous permeability barrier function. *J Clin Invest* 1993; 91: 1656-64.
- 52 Jensen JM, Schutze S, Forl M *et al.* Roles for tumor necrosis factor receptor p55 and sphingomyelinase in repairing the cutaneous permeability barrier. *J Clin Invest* 1999; 104: 1761-70.
- 53 Schmuth M, Man MQ, Weber F *et al.* Permeability barrier disorder in Niemann-Pick disease: sphingomyelin-ceramide processing required for normal barrier homeostasis. *J Invest Dermatol* 2000; 115: 459-66.
- 54 Briot A, Deraison C, Lacroix M *et al.* Kallikrein 5 induces atopic dermatitis-like lesions through PAR2-mediated thymic stromal lymphopoietin expression in Netherton syndrome. *J Exp Med* 2009; 206: 1135-47.
- 55 Brown SJ, Irvine AD. Atopic eczema and the filaggrin story. *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery* 2008; 27: 128-37.
- 56 Brown SJ, McLean WH. One remarkable molecule: filaggrin. *J Invest Dermatol* 2012; 132: 751-62.

Figure 1 was used with permission from Rachmat Tubagus, doktermudatrader.blogspot.nl (2012)

Figure 2a was purchased from iStockphoto

Figure 2b was purchased from Shutterstock

Verklarende woordenlijst

Deze verklarende woordenlijst fungeert als supplement bij de Nederlandse Samenvatting, en dient in de context gelezen te worden. De termen zijn op alfabetische wijze vermeld.

Affiniteit: Aantrekkingskracht tussen het molecuul (ligand) en het enzym. Een ligand met een hogere affiniteit voor een bepaald enzym zal makkelijker een binding vormen met het enzym en vervolgens omgezet worden.

Allergeen-specifiek immunoglobuline-E (IgE): Lichaamseigen antistof dat een rol speelt bij overgevoeligheid. IgE bindt aan de allergene stof en zet een immuunreactie in werking. In het geval van een allergie is er sprake van een overreactie.

Allergenen: Stoffen (van buitenaf) die een allergie kunnen veroorzaken. Het lichaam reageert hierop hevig met een overgevoelige reactie en (eventueel) de aanmaak van IgE. Bekende voorbeelden zijn pollen en huisstofmijt, maar ook pinda's en koemelkeiwitten kunnen een IgE-gemedieerde immuunreactie in gang zetten.

Atmosferische druk chemische ionisatie (APCI): Een methode om geladen deeltjes (ionen) te verkrijgen via verdamping en het gebruik van elektrische ontladingen met een hoog voltage (waarbij plasma ontstaat). Deze ionen zijn nodig om met een massaspectrometer te kunnen detecteren.

β -glucocerebrosidase: Enzym dat een suikergroep 'losknipt' van een glucosylceramide-molecuul, waardoor een ceramide ontstaat.

Biosynthese: Natuurlijke aanmaak van stoffen in het lichaam via enzymatische reacties.

Chloride-adducten: Een geladen deeltje (ion) gevormd uit de koppeling van het oorspronkelijke molecuul met een chloor-atoom. Adducten worden gebruikt in massaspectrometrie omdat het oorspronkelijke molecuul bijvoorbeeld erg instabiel of niet goed detecteerbaar is.

Elongatie: Natuurlijke manier om koolstofketens (zoals het geval bij vetzuren) te verlengen met behulp van enzymen (zogenaamde elongases).

Epidermale proteases: enzymen in de huid die eiwitbindingen afbreken.

Ex-vivohuid: Huid waarop onderzoek gedaan wordt, maar buiten het lichaam. In dit geval gaat het om huid dat via plastische chirurgie is verwijderd en vervolgens geprepareerd is om experimenteel werk op te kunnen verrichten.

Expressie: Het proces waarin het DNA van een gen wordt gekopieerd en tot uiting komt (fenotype), vaak als een eiwit (in dit geval filaggrine). Of een gen ook daadwerkelijk tot expressie komt hangt af van vele factoren, waaronder de omgeving. Het genotype (DNA) bepaalt dus maar in beperkte mate de uiterlijke vorm en hoeveelheid van een eiwit (fenotype).

Fenotypisch: Waarneembaar/Meetbare resultaat van een genotype (DNA). Iets wat in het DNA zit hoeft niet altijd tot uiting te komen in een fenotype ('zichtbaar te worden'), omdat ook andere factoren een rol spelen zoals de omgeving (zie 'Expressie'). In dit geval gaat het om het filaggrine-gen (genotype), dat uiteindelijk tot uiting kan komen in het eiwit filaggrine (fenotype).

Filaggrine: Eiwit in de huid met twee belangrijke functies. Allereerst zorgt het voor het bij elkaar houden van keratinefillamenten, 'eiwitdraden' die zorgen voor de compactheid en stevigheid van huidcellen. Daarnaast wordt filaggrine afgebroken in moleculen die belangrijk zijn voor de hydratatie van de huid, de NMF.

Fourier transform

infraroodspectroscopie (FTIR):

Analytische techniek waarbij met behulp van infrarode straling gekeken wordt naar specifieke trillingen van moleculen.

Hiermee kan de laterale structuur van de lipiden onderzocht worden, omdat de lipiden met een andere frequentie trillen als de ordening verandert.

Fragmentatie-MS:

Een massaspectrometrische techniek waarbij de ionen worden gefragmenteerd. Uit de massa van deze fragmenten kan de molecuulstructuur van het ion herleidt worden.

Genotype: De erfelijke eigenschappen (genen) die zich bevinden in het DNA.

Hoge-resolutie MS: Met een massaspectrometer met hoge resolutie kan de massa van ionen bepaald worden tot op 5 à 6 decimalen achter de komma.

Huidbiopten: Stukjes huidweefsel dat is weggesneden zodat het gebruikt kan worden voor onderzoek.

Humane huidmodellen: gekweekte huid dat grote gelijkenissen vertoont met menselijke huid.

Hydroxy-vetzuren: Vetzuren met een extra hydroxyl-groep (OH-groep) in het molecuul.

In-vivo huid: Huid waarop onderzoek verricht wordt in een levend organisme. In dit geval waren het de onderarmen van vrijwilligers waarop onderzoek gedaan is.

Ionsuppressie: Bij massaspectrometrie kunnen meerdere ionen met verschillende massa's tegelijkertijd gemeten worden. Het signaal van het ene ion kan echter wel het signaal van het andere ion verstoren, waardoor het signaal gedeeltelijk of zelfs geheel weg kan vallen. Dit gebeurt voornamelijk als de detector teveel ionen in een te korte tijd krijgt te verwerken.

Kwantitatief: Iets dat uit te drukken is in een bepaalde hoeveelheid (bijvoorbeeld gram, milliliter, of percentage). Dit is tegengesteld aan kwalitatief, wat alleen ingaat op de vraag OF iets aanwezig is of niet.

Lamellaire lipidenstructuur: Een structuur tussen de corneocyten dat bestaat uit repeterende lagen (fasen) van lipiden. In humaan stratum corneum komt een lange en korte periodiciteitsfase voor. Niet te verwarren met de molecuulstructuur, wat een weergave is van alle atomen in een molecuul.

Laterale lipidenstructuur: Lateraal betekent letterlijk zijkant. Men bekijkt de lipiden vanuit het vlak dat loodrecht op de lamellaire structuur staat. Niet te verwarren met de molecuulstructuur, wat een weergave is van alle atomen in een molecuul.

LEKTI: Een eiwit dat staat voor Lympho-epithelial Kazal-type-related inhibitor. Dit eiwit bindt zich aan specifieke proteases, enzymen die eiwitbindingen doorknippen (zie Epidermale Proteases). Doordat LEKTI bindt aan de proteases, kunnen andere eiwitten niet meer binden en geknipt worden. Op deze manier inhibeert (verhindert) LEKTI de werking van bepaalde proteases in de epidermis, waardoor de huid niet overmatig schilfert.

Lipiden: vetachtige stoffen die slecht oplossen in water. Lipiden hebben in het menselijk lichaam velerlei functies, waaronder de barrièrefunctie in de huid. Lipiden die voorkomen in het stratum corneum zijn cholesterol, vetzuren en ceramides.

Lipide/eiwit ratio: Verhouding van het aantal lipiden ten opzichte van de hoeveelheid eiwit. Omdat het stratum corneum bestaat uit lipiden en corneocyten (dode cellen bestaande uit voornamelijk keratine, een eiwit), is de ratio een goede maat voor het aantal lipiden ten opzichte van het totaal aan stratum corneum.

Massaspectrometrie: Een analytische techniek waarbij moleculen eerst omgezet worden in ionen (geladen deeltjes), waarna het mogelijk is om de exacte molecuulmassa te kunnen meten van deze ionen.

Metabolieten: Natuurlijke afbraakproducten. Filaggrine wordt in de huid afgebroken tot kleinere moleculen – zoals de NMF – die een eigen functie hebben.

Monstervoorbewerking: Voordat een (huid)monster gemeten kan worden met analytische apparatuur, moeten er eerst een aantal stappen genomen worden om goede metingen te kunnen verrichten en vervuiling te voorkomen. Zo moeten de lipiden eerst uit de cellen geëxtraheerd worden en het lipidenextract opgezuiverd worden.

Mutaties: veranderingen in het DNA. In het geval van filaggrine kunnen mutaties leiden tot (onder andere) minder synthese van het eiwit filaggrine.

NMF: Natuurlijke hydratatiefactor van de huid, de zogenaamde Natural Moisturizing Factor. Deze is belangrijk voor een goede waterhuishouding in de huid, en bestaat uit onder meer afbraakproducten van het eiwit filaggrine.

Normale fase LC: Een manier van vloeistofchromatografie waarbij de vaste fase een polaire stof is. Deze vorm van chromatografie is tegenwoordig ongebruikelijk.

Omgekeerde fase LC: Een manier van vloeistofchromatografie waarbij de vaste fase een apolaire stof is, vaak een lange koolstofketen. Dit is tegenwoordig de meestvoorkomende vorm van chromatografie.

Onverzadigde vetzuren: Vetzuren met een dubbele binding in hun molecuulstructuur. Vetzuren kunnen enkelvoudig onverzadigd, maar ook meervoudig onverzadigd zijn. Laatstgenoemde komen nauwelijks voor in humaan stratum corneum.

Precursors: Uitgangsstoffen die als voorloper dienen voor de uiteindelijk stof.

Proteaseremmer: Een eiwit dat bindt aan een protease (enzym dat eiwitbindingen doorknipt), waardoor andere eiwitten niet meer geknipt kunnen worden en de werking van de protease dus wordt geremd (geïnhibeert).

Ramanspectroscopie: Analytische techniek waarbij met behulp van een laser met monochromatisch licht (licht met één golflengte) gekeken wordt naar de Raman-verstrooiing van dit licht. Deze verstrooiing hangt samen met specifieke trillingen van moleculen. Hiermee kan onder meer de verhouding tussen lipiden en eiwit in het stratum corneum bepaald worden omdat de lipiden met een andere frequentie trillen dan de eiwitten.

Röntgen-diffractie: Analytische techniek waarbij Röntgenstraling wordt gebruikt om de lamellaire structuur van in dit geval lipiden in het stratum corneum te onderzoeken.

Sfingomyelinase: Enzym dat een fosfocholine 'losknijpt' van een sfingomyeline-molecuul, waardoor een ceramide ontstaat.

SPINK5 gen: Het gen wat codeert voor het eiwit LEKTI (zie LEKTI), en wat gemuteerd is bij mensen met Netherton syndroom. De naam staat voor serine peptidase inhibitor, Kazal type 5.

Stratum corneum: Beter bekend als de hoornlaag van de huid, die bestaat uit dode cellen met daartussen de lipiden. Deze dunne huidlaag fungeert als belangrijkste barrière tegen het binnendringen van stoffen van buitenaf. Daarnaast voorkomt het uitdroging.

Tape-strippen: methode om met behulp van 'tape' snel en op een niet belastende manier laagjes stratum corneum te verkrijgen.

Transdermaal waterverlies: De hoeveelheid water dat vanuit het lichaam via de huid wordt afgegeven aan de omgeving. Niet te verwarren met zweet, dat via zweetklieren wordt afgegeven.

Validatieprotocol: Een protocol waarin getest wordt of de ontwikkelde methode voldoet aan de eisen die vooraf gesteld zijn.

Vloeistofchromatografie: Een techniek waarbij stoffen gescheiden worden op basis van hun affiniteit met een vaste fase ten opzichte van een bewegende vloeistoffase: Stoffen worden meegeleid in een vloeistof langs een analytische kolom met een vaste fase. Stoffen die chemisch gezien meer overeenkomst vertonen met de vaste fase worden vertraagd en worden op deze manier in de mobiele fase gescheiden van stoffen die minder overeenkomst vertonen met de vaste fase.

Ionisatie: Het proces waarbij een ongeladen molecuul een geladen atoom (of elektron) meer of minder krijgt en zo een positieve of negatieve lading krijgt.

