



La puissance des dermocorticoïdes : Vers une nouvelle approche de la classification

Alexandre Guichard

► To cite this version:

Alexandre Guichard. La puissance des dermocorticoïdes : Vers une nouvelle approche de la classification. Médicaments. Université de Franche-Comté, 2014. Français. NNT : 2014BESA3014 . tel-01426842

HAL Id: tel-01426842

<https://theses.hal.science/tel-01426842>

Submitted on 5 Jan 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE DE FRANCHE-COMTE

ECOLE DOCTORALE « ENVIRONNEMENTS-SANTE »

Année 2014

LA PUISSANCE DES DERMOCORTICOÏDES :
VERS UNE NOUVELLE APPROCHE DE LA CLASSIFICATION

THESE

Pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université de Franche-Comté

Spécialité : Sciences de la Vie et de la Santé

Présentée et soutenue publiquement

Le 04 décembre 2014

Par

Alexandre GUICHARD

Né le 23 septembre 1985

Directeur de thèse : Philippe HUMBERT

Bénédicte LEBRUN-VIGNES, Praticien Hospitalier

Philippe PICCERELLE, Professeur

Olivier DEREURE, Professeur

Philippe HUMBERT, Professeur

Examineur

Rapporteur

Rapporteur

Directeur de thèse

REMERCIEMENTS,

A NOTRE DIRECTEUR DE THESE

Monsieur le Professeur Philippe HUMBERT,

Professeur de Dermato-Vénéréologie au CHRU de Besançon.

Vous nous faites l'honneur de diriger et d'encadrer notre travail.

Vous nous avez fait l'honneur de nous accueillir dans votre service.

Vous nous avez fait confiance et vous nous avez donné des responsabilités.

Nous avons particulièrement apprécié vos conseils, votre enseignement et votre soutien tout au long de ce travail.

Nous vous prions de trouver ici l'expression de toute notre gratitude et notre profond respect.

A NOTRE JUGE

Madame le Docteur Bénédicte LEBRUN-VIGNES,

Praticien Hospitalier au CHU de la Pitié Salpêtrière de Paris.

Vous nous faites l'honneur d'accepter de juger ce travail dont la thématique vous est chère.

Nous vous prions de trouver ici l'expression de toute notre gratitude et notre profond respect.

A NOTRE RAPPORTEUR

Monsieur le Professeur Philippe PICCERELLE,

Professeur de Pharmacie à l'UFR de Pharmacie de Marseille.

Vous nous faites l'honneur d'accepter de juger ce travail et d'apporter votre vision pharmacologique.

Nous vous prions de trouver ici l'expression de toute notre gratitude et notre profond respect.

A NOTRE RAPPORTEUR

Monsieur le Professeur Olivier DEREURE,

Professeur de Dermato-Vénéréologie au CHU de Montpellier.

Vous nous faites l'honneur d'accepter de juger ce travail avec votre grande expérience de dermatologue de renom.

Nous vous prions de trouver ici l'expression de toute notre gratitude et notre profond respect.

DEDICACES,

A ma famille à qui je tiens énormément,

A mon père, paradoxe du destin, si tu n'es pas là c'est en partie à cause de ce sujet. Je pense à toi.

A ma mère, Radia, mes deux sœurs, Julie et Marine et mon frère, Hugo, que j'aime tant.

A ma famille maternelle, Mimoun, Wafa, Wassime, Maessa, Basma, Kamel et tous les autres.

A ma famille paternelle Olivier, Odile, Gaël, Sabine, Serge, Anthony, Greg et bien sûr à mes grands-parents Annie et Dédé, que j'adore et dont j'admire la vie formidable et la force.

Enfin, à Clémentine, ma moitié et mon tout, merci pour son soutien quotidien et sa gentillesse inégalée.

A mes amis,

Depuis l'école primaire en passant par le lycée, la fac et l'internat : toutes ses rencontres inoubliables, avec qui tant de choses se sont passées.

A mes collègues,

Au service de dermatologie (aux infirmières d'allergologie et Monique en particulier), au CERT (à Thomas pour son soutien et sa présence quotidienne), au LIBC (Céline, Marion, Patrice, Gwen et Youssef), à SkinExigence et à BioExigence.

En particulier à mes deux co-directeurs Jean-Marie pour son regard méthodologique et Ahmed pour sa bienveillance, sa vision scientifique, sa visite quotidienne et son humour.

A Sophie Mac-Mary pour sa gentillesse et sa grande perspicacité.

A Sylvie Fauconnet et Laurence Nicod pour leurs disponibilités et leurs grandes compétences.

TABLES DES MATIERES

Chapitre 1 : Les Dermocorticoïdes - Introduction	1
1.1 Pharmacologie des corticostéroïdes	3
1.1.1 Classe pharmacologique : les dermocorticoïdes (DC) parmi les corticostéroïdes (CS)	3
1.1.2 Les principaux mécanismes d'action des GC (7–11)	5
1.1.3 Les propriétés pharmacodynamiques des GC (12,13)	6
1.1.3.1 Activité anti-inflammatoire et immunosuppressive	6
1.1.3.2 Activité antimitotique ou antiproliférative	8
1.1.3.3 Les autres propriétés des GC	8
1.1.4 La pharmacocinétique des DC	9
1.2 Les indications des DC (13,17)	11
1.3 La posologie des DC	12
1.4 Les effets indésirables des DC (22)	14
1.4.1 Les effets indésirables locaux	14
1.4.2 Les effets indésirables systémiques	14
1.4.2.1 Effet indésirable de type hormonal	14
1.4.2.2 L'hypersensibilité aux DC	15
1.4.2.3 Les effets sur la grossesse	16
1.4.3 Les effets indésirables de la classe des GC	16
1.5 La classification des DC	18
1.5.1 Le test de vasoconstriction ou vasoconstrictor assay (VCA)	18
1.5.1.1 Description et historique du VCA	18
1.5.1.2 Les modifications apportées au VCA	20
1.5.2 Les autres outils d'évaluation de la vasoconstriction	23
1.5.3 Les autres modèles d'évaluation de la puissance des DC	23
1.5.3.1 Expérimentation sur l'homme	24
1.5.3.2 Expérimentation <i>in vitro</i>	25
1.5.3.3 Expérimentation animale	26
1.5.4 La remise en question de la classification des DC	26
1.5.4.1 Pourquoi ?	26
1.5.4.1.1 La classification différente d'un pays à l'autre	26
1.5.4.1.2 Les faiblesses du VCA	29
1.5.4.1.3 Le VCA teste la peau saine !	30
1.5.4.2 Ce qui a déjà été réalisé	30
1.5.4.3 Notre approche pour la remise en question de la classification de la puissance des DC	32

1.5.4.3.1	L'effet anti-inflammatoire dans un contexte d'eczéma de contact	32
1.5.4.3.2	L'effet antiprolifératif	33
1.5.4.3.3	L'effet anti-histaminolibérateur	33
Chapitre 2 : Les effets anti-inflammatoires et antiallergiques des dermocorticoïdes		35
2.1	Introduction	37
2.2	Matériel et méthodes	38
2.2.1	Patients	38
2.2.2	Protocole	39
2.2.3	Traitements	40
2.2.4	Evaluation clinique	40
2.2.5	Mesure du flux sanguin de la microcirculation cutanée par laser doppler	40
2.2.6	Mesure de la couleur de la peau par colorimétrie	40
2.2.7	Mesure de la température cutanée par caméra thermographique infrarouge	41
2.2.8	Mesure de la fonction barrière cutanée par mesure de la perte insensible en eau	41
2.2.9	Evaluation du prurit	42
2.2.10	Mesure de l'inflammation cutanée par microscopie confocale	42
2.2.11	Analyse statistique	43
2.3	Résultats	44
2.3.1	Evaluation clinique	44
2.3.2	Mesure du flux sanguin de la microcirculation cutanée par laser doppler	47
2.3.3	Mesure de la couleur de la peau par colorimétrie	51
2.3.3.1	Paramètre L*	51
2.3.3.2	Paramètre a*	55
2.3.3.3	Paramètre b*	59
2.3.4	Mesure de la température cutanée par thermographie	63
2.3.5	Mesure de la fonction barrière cutanée par mesure de la perte insensible en eau	66
2.3.6	Evaluation du prurit	70
2.3.7	Mesure de l'inflammation cutanée par microscopie confocale	73
2.4	Discussion	80
2.4.1	La différence d'effet entre les traitements n'a pas été observée pour tous les paramètres de l'inflammation	80
2.4.2	Analyse de la pharmacodynamie des DC au cours du temps	80
2.4.3	L'intérêt du laser doppler dans la comparaison de l'effet vasoconstricteur des DC	81
2.4.4	L*, un paramètre colorimétrique discriminant pour comparer l'effet anti-érythémateux des DC	81
2.4.5	La variation de la température cutanée, un paramètre peu sensible	82
2.4.6	La PIE, un paramètre peu adapté à notre modèle expérimental	83

2.4.7	Les nouvelles applications de la microscopie confocale dans la comparaison de l'efficacité anti-inflammatoire des DC	83
2.4.8	L'évaluation clinique, un paramètre sensible	84
2.4.9	Le prurit, un symptôme qui régresse rapidement sur notre modèle expérimental	85
2.4.10	Un véhicule pas si inerte	85
2.4.11	L'importance de la posologie	86
2.5	Conclusion	87
2.6	Tableaux et figures complémentaires	89
Chapitre 3 : Les effets antiprolifératifs et apoptotiques des dermocorticoïdes		95
3.1	Synthèse de l'étude	97
3.1.1	Introduction	97
3.1.2	Matériel et méthodes	97
3.1.3	Résultats et discussion	98
3.1.4	Conclusion	98
3.2	Mise au point du protocole	101
3.2.1	Essai à partir des crèmes	101
3.2.2	Dilutions des principes actifs dans le milieu de culture	101
3.2.3	L'ensemencement des plaques six puits	102
3.3	L'article	103
3.4	Résultats complémentaires	121
3.4.1	Mort cellulaire quantifiée par la phase sub-G1	121
3.4.2	Effet prolifératif de l'éthanol à faible concentration.	122
3.5	Conclusion	123
Chapitre 4 : L'effet anti-histaminolibérateur des dermocorticoïdes		125
4.1	Synthèse de l'étude	127
4.1.1	Introduction	127
4.1.2	Matériel et méthodes	127
4.1.3	Résultats et discussion	127
4.1.4	Conclusion	128
4.2	L'article	129
4.3	Résultats complémentaires	135
Discussion Générale - Perspectives		137

<i>Annexes</i>	141
<i>Références bibliographiques</i>	163
<i>Publications - Communications</i>	177

TABLES DES FIGURES ET DES TABLES

Figure 1 : Formule chimique de l'hydrocortisone	4
Figure 2 : Formules chimiques de trois sels de glucocorticoïdes	5
Figure 3 : Propriétés pharmacodynamiques des glucocorticoïdes à l'échelon moléculaire, d'après (13).....	7
Figure 4 : Activité des glucocorticoïdes à l'échelon cellulaire, d'après (13)	7
Figure 5 : Effets anti-inflammatoires, immunosuppresseurs et vasoconstricteurs des glucocorticoïdes, d'après (15).....	8
Figure 6 : Résorption de l'hydrocortisone appliquée par voie topique en fonction de la localisation, d'après (17)	11
Figure 7 : Correspondance du nombre d'unité phalange (FTU) en fonction de la surface à traiter et de l'âge d'après (21).....	13
Figure 8 : Réponse typique au test de vasoconstriction après l'application de plusieurs dermocorticoïdes sur la face intérieure de l'avant-bras. D'après (39).	19
Figure 9 : Profil typique de blanchiment. D'après (45).....	20
Figure 10 : Influence du temps de contact sur la classification du blanchiment cutané, in vivo, 18h après application de cinq formulations commercialisées de 0,05% de betaméthasone dipropionate. Application de 2,6 µL/cm ² de peau. Par ordre : pommade optimisée, crème optimisée, pommade standard, crème standard, lotion standard.	21
Figure 11 : Premier schéma d'étude proposé par la FDA : Applications de dermocorticoïdes décalées et retraits synchronisés. A gauche, application et retrait du médicament, BL : valeur basale (baseline). A droite, mesure du blanchiment cutané. D'après (60).....	22
Figure 12 : Deuxième schéma d'étude proposé par la FDA : Applications de dermocorticoïdes synchronisées et retraits décalés. A gauche, application et retrait du médicament, BL : valeur basale (baseline). A droite, mesure du blanchiment cutané. D'après (60).	22
Figure 13 : Classification américaine de la puissance des dermocorticoïdes d'après (109).....	27
Figure 14 : Classification anglaise ou allemande de la puissance des dermocorticoïdes selon le British National Formulary, d'après (109).....	28
Figure 15 : Classification française de la puissance des dermocorticoïdes d'après (13).....	29

Figure 16 : Efficacité contre effets indésirables des corticostéroïdes. Une représentation de l'efficacité contre les effets indésirables (index thérapeutique) pour plusieurs dermocorticoïdes. Les dermocorticoïdes entourés ont un index thérapeutique proche de 2 ce qui témoigne d'un bon rapport bénéfice/risque. BMV=betamethasone valerate, CP=clobetasol propionate, HCB=hydrocortisone butyrate, PC=prednicarbate, HPA=axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien, MM=mometasone furoate, MPA=methylprednisolone aceponate, HC=halcinonide, TRI=triamcinolone acetonide. D'après (116)..... 31

Figure 17 : Corrélation entre le bénéfice (suppression de la production d'IL-1 α par les kératinocytes=effet anti-inflammatoire) et le risque (suppression de la production d'IL-1 α par les fibroblastes=effet atrophiant) de différents CS à la concentration de 10⁻⁸M. BM=betamethasone, BMV = betamethasone 17-valerate, DCE=desoximethasone 21-cinnamate, DM=desoximethasone, PC=prednicarbate, PD=prednisolone, PEP=prednisolone 17-ethylcarbonate 21-phenylacetate. D'après (117). 31

Figure 18 : Schéma du protocole de l'étude. PT = Patch-tests 5% Nickel dans vaseline. 39

Figure 19 : Courbes représentant la cotation clinique moyenne au cours du temps pour chaque traitement. Les moyennes ($\pm$ écart-type) sont représentées dans le tableau. 45

Figure 20 : Courbes représentant le pourcentage d'évolution moyen de la cotation clinique par rapport à J3. Les moyennes ($\pm$ écart-type) sont représentées dans le tableau. 46

Figure 21 : Cotation clinique moyenne durant les quatre jours de traitements (J3 à J7)..... 46

Figure 22 : Courbes représentant le flux sanguin moyen, déterminé par laser doppler, au cours du temps pour chaque traitement. Les moyennes en u.a ($\pm$ écart-type) sont représentées dans le tableau. Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoal®, Betneval®, Locapred®. 48

Figure 23 : Courbes représentant le pourcentage d'évolution moyen du flux sanguin par rapport à J3. Les moyennes ($\pm$ écart-type) sont représentées dans le tableau. 49

Figure 24 : Pourcentage de différence, par rapport au contrôle (site sain non enflammé), du flux sanguin pour chaque traitement. Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoal®, Betneval®, Locapred®. 50

Figure 25: Flux sanguin moyen durant les quatre jours de traitements (J3 à J7). 50

Figure 26 : Courbes représentant le paramètre colorimétrique L* moyen au cours du temps pour chaque traitement. Les moyennes en u.a ($\pm$ écart-type) sont représentées dans le tableau..... 52

Figure 27 : Courbes représentant le pourcentage d'évolution moyen du paramètre colorimétrique L* par rapport à J3. Les moyennes ($\pm$ écart-type) sont représentées dans le tableau. Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoal®, Betneval®, Locapred®..... 53

Figure 28 : Pourcentage de différence, par rapport au contrôle (site sain non enflammé), du paramètre colorimétrique L* pour chaque traitement. Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.....	54
Figure 29 : Paramètre colorimétrique L* moyen durant les quatre jours de traitements (J3 à J7).	54
Figure 30 : Courbes représentant le paramètre colorimétrique a* moyen au cours du temps pour chaque traitement. Les moyennes en u.a (± écart-type) sont représentées dans le tableau.....	56
Figure 31 : Courbes représentant le pourcentage d'évolution moyen du paramètre colorimétrique a* par rapport à J3. Les moyennes (± écart-type) sont représentées dans le tableau.	57
Figure 32 : Pourcentage de différence, par rapport au contrôle (site sain non enflammé), du paramètre colorimétrique a* pour chaque traitement. Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.....	58
Figure 33 : Paramètre colorimétrique a* moyen durant les quatre jours de traitements (J3 à J7).	58
Figure 34 : Courbes représentant le paramètre colorimétrique b* moyen au cours du temps pour chaque traitement. Les moyennes en u.a (± écart-type) sont représentées dans le tableau.....	60
Figure 35 : Courbes représentant le pourcentage d'évolution moyen du paramètre colorimétrique b* par rapport à J3. Les moyennes (± écart-type) sont représentées dans le tableau.	61
Figure 36 : Pourcentage de différence, par rapport au contrôle (site sain non enflammé), du paramètre colorimétrique b* pour chaque traitement.....	62
Figure 37 : Paramètre colorimétrique b* moyen durant les quatre jours de traitements (J3 à J7).	62
Figure 38 : Courbes représentant la température cutanée moyenne au cours du temps pour chaque traitement. Les moyennes en °C (± écart-type) sont représentées dans le tableau.	63
Figure 39 : Courbes représentant le pourcentage d'évolution moyen de la température cutanée par rapport à J3. Les moyennes (± écart-type) sont représentées dans le tableau.....	64
Figure 40 : Pourcentage de différence, par rapport au contrôle (site sain non enflammé), de la température cutanée pour chaque traitement.	65
Figure 41 : Température cutanée moyenne durant les quatre jours de traitements (J3 à J7).	65
Figure 42 : Courbes représentant la perte insensible en eau moyenne au cours du temps pour chaque traitement. Les moyennes en g.m ⁻² .h (± écart-type) sont représentées dans le tableau.....	67

Figure 43 : Courbes représentant le pourcentage d'évolution moyen de la perte insensible en eau par rapport à J3. Les moyennes ($\pm$ écart-type) sont représentées dans le tableau.	68
Figure 44 : Pourcentage de différence, par rapport au contrôle (site sain non enflammé), de la perte insensible en eau pour chaque traitement. Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.....	69
Figure 45 : Perte insensible en eau moyenne durant les quatre jours de traitements (J3 à J7).....	69
Figure 46 : Courbes représentant la cotation du prurit moyen au cours du temps pour chaque traitement. Les moyennes ($\pm$ écart-type) sont représentées dans le tableau.	71
Figure 47 : Courbes représentant le pourcentage d'évolution moyen de la cotation du prurit par rapport à J3. Les moyennes ($\pm$ écart-type) sont représentées dans le tableau.	72
Figure 48 : Cotation du prurit moyenne durant les quatre jours de traitements (J3 à J7).....	72
Figure 49 : Pourcentage de patients dont le nombre de cellules inflammatoires dans l'épiderme a diminué par rapport à J3. Les moyennes sont représentées dans le tableau.	74
Figure 50 : Pourcentage de patients dont le nombre de cellules inflammatoires dans le derme a diminué par rapport à J3. Les moyennes sont représentées dans le tableau.	75
Figure 51 : Pourcentage de patients dont les papilles dermiques sont visibles par rapport à J3. Les moyennes sont représentées dans le tableau.....	76
Figure 52 : Pourcentage de patients dont le nombre de vésicules a diminué par rapport à J3. Les moyennes sont représentées dans le tableau.	77
Figure 53 : Pourcentage de patients dont la spongiose a diminué par rapport à J3. Les moyennes sont représentées dans le tableau.	78
Figure 54 : Courbes représentant le pourcentage d'évolution moyen du score d'inflammation en microscopie confocale par rapport à J3. Les moyennes ($\pm$ écart-type) sont représentées dans le tableau.....	79
Figure 55 : Evolution du flux sanguin cutané au cours du temps en fonction des traitements. Images des lésions inflammatoires provoquées par apposition des patch-tests au nickel obtenues par laser doppler Moor LDI™.	91
Figure 56 : Evolution de la température cutanée au cours du temps en fonction des traitements. Images obtenues par avec la caméra thermographique infra-rouge, Optris™. Les zones rouges correspondent aux températures les plus élevées.....	92

Figure 57 : Evolution de l'aspect clinique des lésions au cours du temps en fonction des traitements.	93
Figure 58 : Aspect clinique, dermoscopique et microscopique, par microscopie confocale in vivo, d'une lésion d'eczéma induite par apposition d'un patch-test.....	94
Figure 59 : Pourcentage d'augmentation de la phase sub-G1 par rapport au témoin pour chaque dermocorticoïdes aux concentrations 10^{-8} M (barres noires) et 10^{-4} M (barres grises). BDP=betamethasone 17,21-dipropionate, CP=clobetasol 17-propionate, DN=desonide, BV=betamethasone 17-valerate, HCB=hydrocortisone 17-butyrate et HC=hydrocortisone base.....	121
Figure 60 : Pourcentages de viabilité cellulaire, déterminé par test MTT, calculés par rapport au milieu de culture seul en guise de contrôle. HaCaT cultivés 72 h.....	122
Figure 61 : Changements relatifs dans le nombre de cellules viables déterminés par le test de MTT après 72h de traitement par éthanol. * $p < 0,05$. D'après (152).....	123
Figure 62 : Relargage cutané d'histamine libérée après injection d'anti-IgE en présence ou non d'un DC sans occlusion. Prélèvements réalisés par microdialyse <i>ex-vivo</i> toutes les 5 min pendant 60 min. Les DC employés pour cette expérimentation étaient le clobetasol propionate 0,05% (Dermoval®), le betamethasone dipropionate 0,05% avec propylène glycol (Diprolene®), le betamethasone dipropionate 0,05% micronisé (Diprosone®), le betamethasone valerate 0,1% (Betneval®), le diflucortolone valerate 0,1% (Nerisone®), le desonide 0,1% (Locapred®) et le desonide 0,05% (Tridesonit®).	136

Table I : Cotation clinique d'un patch-test allergologique selon les recommandations de l'ICDRG.	89
Table II : Critères de graduation des lésions d'allergie de contact basée sur la cotation ICDRG et modifiée par Marks et coll. (131).	89
Table III : Cotation semi-quantitative des critères de l'inflammation par microscopie confocale.....	90
Table IV : Revue de la littérature sur l'effet des glucocorticoïdes sur les kératinocytes. BDP=betamethasone 17,21-dipropionate, CP=clobetasol 17-propionate, DN=desonide, BV=betamethasone 17-valerate, HCB=hydrocortisone 17-butyrate et HC=hydrocortisone base. N/A = non disponible.	100

LISTE DES ABREVIATIONS

ACTH : Hormone adrénocorticotrophine

BDP : Betamethasone dipropionate

BV : Betamethasone valerate

CI : Cellules inflammatoires

CP : Clobetasol propionate

CS : Corticostéroïdes

DC : Dermocorticoïdes

DN : Desonide

EMA : Agence européenne du médicament

FDA: Food and drug administration

FTU : Unité phalangette (fingertip unit)

GC: Glucocorticoïdes

HC : Hydrocortisone base

HCB : Hydrocortisone butyrate

ICDRG : International contact dermatitis research group

MTT : 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium Bromide

PD : Papilles dermiques

SP : Spongiose

TPS : Score maximum possible (total possible score)

VCA : Test de vasoconstriction (vasoconstrictor assay)

VSCL : Vésicules

Chapitre 1

Les Dermocorticoïdes

-

Introduction

1.1 *Pharmacologie des corticostéroïdes*

1.1.1 **Classe pharmacologique : les dermocorticoïdes (DC) parmi les corticostéroïdes (CS)**

Les corticostéroïdes (CS) ou corticoïdes sont des hormones stéroïdiennes naturelles sécrétées chez les êtres humains par le cortex de la glande surrénale à l'origine de leur préfixe « cortico ». Sous l'effet de l'ACTH libérée par l'hypophyse, elle-même stimulée par la CRH de l'hypothalamus, cette partie superficielle de la glande surrénale est capable de produire trois types de CS :

- les glucocorticoïdes (GC), dont les molécules naturelles sont le cortisol (autrement appelée hydrocortisone, 30 mg sont sécrétés chaque jour) et la cortisone. Ils doivent leur nom à leurs effets sur le métabolisme glucidique et protidique en plus de leurs effets anti-inflammatoire et immunomodulateur.
- les minéralocorticoïdes, dont la molécule naturelle est l'aldostérone, régulent l'équilibre hydro-électrolytique (rétention d'eau et de sodium, élimination de potassium).
- les stéroïdes sexuels tels que les androgènes, les œstrogènes et les progestatifs qui jouent un rôle dans le développement des caractères sexuels. A noter que les stéroïdes sexuels sont sécrétés majoritairement par les gonades.

Un défaut de langage fait que le terme « corticoïdes », désigne souvent seulement les glucocorticoïdes, qu'ils soient naturels ou de synthèse.

L'apparition des GC en médecine est finalement assez récente car elle date de 1948 grâce au Dr Hench qui démontra pour la première fois les effets anti-inflammatoires d'un GC sur l'arthrite (1). Peu de temps après cette découverte, Sulzberger *et coll.* révolutionnèrent le monde de la dermatologie en démontrant l'efficacité anti-inflammatoire de l'hydrocortisone en crème sur une lésion cutanée ; une nouvelle classe thérapeutique apparut : les dermocorticoïdes (DC) ou corticoïdes topiques (2). Depuis cette découverte, le nombre de spécialités et les formes galéniques de DC se sont développés. Ces médicaments représentent aujourd'hui, une des classes pharmacologiques les plus prescrites en dermatologie et en médecine générale, à titre d'exemple 36,8 tubes sont vendus chaque minute en France (données CNAM 2012) et, encore plus parlant, en Inde 444 tubes de DC sont vendus chaque seconde (3).

En dehors de la voie topique, les GC font partie des médicaments les plus prescrits en médecine, principalement pour leur activité anti-inflammatoire et immunomodulatrice. Ils existent sous différentes formes galéniques pour différentes voies d'administration:

- voie orale (prednisolone, prednisone),
- voie injectable : intraveineuse ou intramusculaire (bétaméthasone), intra-articulaire (méthylprednisolone acétate), sous-cutanée (triamcinolone acétonide), rachidiennes (cortivazol),
- voie inhalée (béclométasone dipropionate, fluticasone propionate, budésonide)
- voie topique : collyre (dexaméthasone) ou voie cutanée (betamethasone dipropionate, clobetasol propionate, désonide, betamethasone valérate, hydrocortisone butyrate, hydrocortisone...).

Les GC, comme les autres CS sont synthétisés à partir du cholestérol ce qui leur confère une homogénéité de structure et un squelette de base commun. A partir de ce noyau cyclopentane perhydro phenanthrene, l'activité du CS est déterminée par la nature et par la position des fonctions. Prenons l'exemple de l'hydrocortisone, les fonctions et doubles liaisons présentes en 3, 4-5, 17 et 20 sont indispensables pour exercer une activité GC (Figure 1).

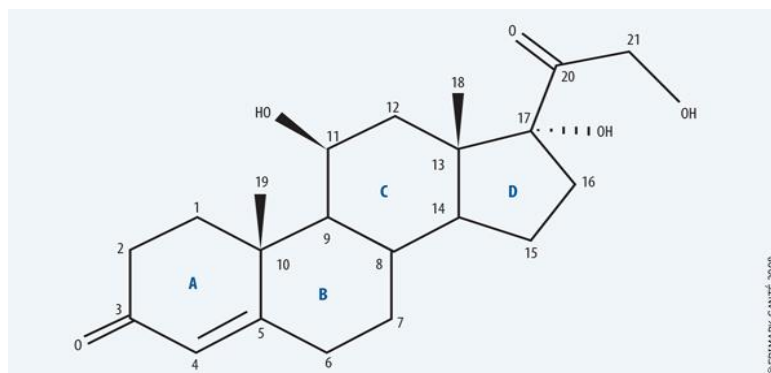


Figure 1 : Formule chimique de l'hydrocortisone

À partir de l'analyse de la relation structure-activité de l'hydrocortisone, l'industrie pharmaceutique a cherché à réaliser des modifications chimiques et structurales pour : améliorer la pénétration cutanée des DC, retarder leur dégradation enzymatique afin d'augmenter leur durée de vie, accélérer leur rapidité d'action et augmenter leur affinité pour les récepteurs cytosoliques. Parmi ces améliorations possibles, citons la double liaison entre C1 et C2 (4), l'halogénéation de la molécule (ajout d'un groupe fluor ou chlore en C6 ou C9) (5), la substitution méthyle en C16 ou hydroxyle en C16 ou C17, la liaison acétonide entre C16 et C17, l'estérification de C17 ou de C21. Afin d'améliorer la solubilité des molécules dans certaines formes galéniques comme les crèmes ou pommades, des sels de type propionate, valérate ou encore butyrate ont été synthétisés (Figure 2). La manipulation moléculaire a aussi permis de diminuer leurs

propriétés minéralocorticoïdes intrinsèques (rétention de sodium, fuite de potassium et de proton) dans le but de diminuer leurs effets indésirables.

Le contre-pendant de cette amélioration des qualités pharmacologiques des DC, est la modification de leur immunogénicité ce qui a entraîné l'apparition de réactions d'hypersensibilités (6).

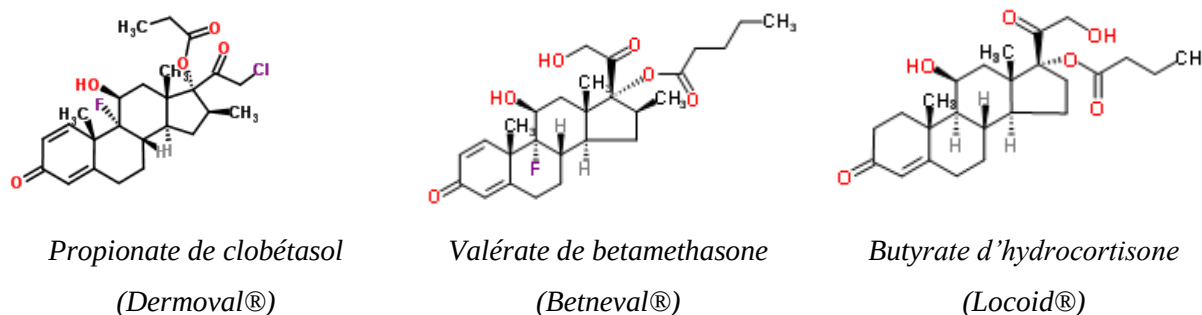


Figure 2 : Formules chimiques de trois sels de glucocorticoïdes

1.1.2 Les principaux mécanismes d'action des GC (7–11)

Seule la fraction libre du GC (soit 10 à 20%) est responsable de l'activité pharmacologique par l'intermédiaire d'un récepteur intracytoplasmique, le récepteur aux GC. Ce récepteur est exprimé de manière quasi ubiquitaire, mais la densité en récepteurs varie selon la cellule. Il est organisé en trois domaines majeurs : un domaine N-terminal qui porte une fonction d'activation de la transcription, le domaine central de liaison à l'ADN au niveau des glucocorticoïde-réponse éléments (GRE) et un domaine C-terminal de liaison à l'hormone. Le récepteur aux GC est présent sous forme inactive dans le cytosol. En l'absence de ligand, il est complexé à des protéines de choc thermique, en particulier Hsp90. La liaison à un GC provoque la dissociation de Hsp90 et la translocation nucléaire de l'ensemble ligand/récepteur. Au-delà de cette étape, le complexe hormone/récepteur module la transcription de gènes cibles, soit positivement par un processus appelé transactivation, soit au contraire négativement selon des mécanismes de transrepression.

Les GC contrôlent notamment l'expression de multiples gènes de l'inflammation. Dans le cas de la transactivation, il se produit par exemple une augmentation de production de protéines anti-inflammatoires comme l'Annexine 1 qui est un inhibiteur de la phospholipase A2 ou la protéine i-kB qui est un inhibiteur de NF-kB. La transactivation concerne aussi des gènes dont les produits contrôlent la gluconéogenèse (glucose-6 phosphatase par exemple), la pression artérielle et l'équilibre osmotique (angiotensinogène et récepteur de l'angiotensine notamment), le catabolisme protéique et la pression intraoculaire. L'activation de ces gènes par les GC pourrait être impliquée dans la survenue de certains effets indésirables du traitement. Les GC inhibent aussi, par transrepression, l'activité de facteurs de transcription qui contrôlent l'expression de divers gènes comme ceux du TNF- α ou de l'IL-1.

Les effets dépendant de la régulation transcriptionnelle, décrits précédemment, apparaissent nécessairement après un certain délai puisqu'ils interviennent sur le génome. Cependant, certains effets bien connus des GC surviennent plus rapidement ce qui laisse supposer un mécanisme d'action rapide ne faisant pas intervenir la fixation au récepteur cytosolique, l'internalisation nucléaire et la fixation à l'ADN. On sait par exemple que certaines actions des GC peuvent survenir alors même que l'entrée de l'hormone dans la cellule est bloquée. Une partie de ces effets non génomique serait liée à une activité située sur la membrane cellulaire. Différents mécanismes d'action sont envisagés comme une action sur la perméabilité des lipides membranaires avec un effet stabilisant de membrane, une interaction ou une régulation de récepteurs membranaires. Ces effets non génomiques peuvent s'exercer de façon concomitante à une régulation transcriptionnelle. Par exemple, le rétrocontrôle négatif de l'axe corticotrope par les GC s'effectue par des mécanismes génomiques (transrepression notamment) et non génomiques. Ce mode de régulation complexe expliquerait le fait que la suppression physiologique de l'axe se produise dès les premières minutes de contact avec les GC et se prolonge pendant plusieurs heures.

1.1.3 Les propriétés pharmacodynamiques des GC (12,13)

1.1.3.1 Activité anti-inflammatoire et immunosuppressive

De la même manière que pour les GC systémiques, les DC agissent via des récepteurs intra-cytosoliques mis en évidence au niveau des cellules épidermiques (kératinocytes) et dermiques (fibroblastes).

Les GC inhibent fortement la transcription de nombreuses cytokines intervenant dans la réaction inflammatoire chronique. Ils exercent une action indirecte en induisant la synthèse d'Annexine 1 ou lipocortine-1 au niveau des leucocytes humains. L'Annexine 1 est une protéine possédant une activité antiphospholipasique A2, diminuant ainsi la synthèse d'acide arachidonique. Ceci induit une inhibition de la synthèse des prostaglandines (E2 en particulier), des leucotriènes (B4 en particulier) et du PAF (platelet-activating factor), intervenant dans la cascade de la réponse inflammatoire. Les GC ont aussi des effets directs par l'inhibition de la transcription des enzymes impliquées dans la formation des lipides pharmacologiquement actifs (phospholipase A2 ou cyclo-oxygénase 2). De plus, ils peuvent intervenir sur le métabolisme de certains médiateurs inflammatoires (système de la bradykinine...) et peuvent inhiber directement ou indirectement l'expression de certaines molécules d'adhésion (Figure 3). Enfin, ils agissent aussi à l'échelle cellulaire en inhibant la prolifération de nombreuses cellules clefs de la réponse immunitaire (Figure 4).

Gènes cibles	Inhibition de la transcription	Activation de la transcription
Cytokines	Cytokines pro-inflammatoires IL1, IL2, IL3, IL4, IL5, IL6, IL8, IL11, IL12, IL15, IL16, TNF- α , interféron- γ , CSF, M-CSF, GM-CSF	TGF- β , cytokine immunosuppressive inhibant la production de cytokines pro-inflammatoires
Médiateurs de l'inflammation	Phospholipase A2 Cyclo-oxygénase 2	Lipocortine-1 (ou annexine-1) : protéine ayant une activité antiphospholipasique A2 diminuant la synthèse d'acide arachidonique
Molécules d'adhésion	ICAM-1 et ELAM-1	

IL : interleukine ; TNF- α : tumor necrosis factor-alpha ; CSF : colony stimulating factor ; M-CSF : macrophage colony stimulating factor ; GM-CSF : granulocyte-macrophage colony stimulating factor ; ICAM-1 : intercellular adhesion molecule-1 ; ELAM-1 : endothelial leukocyte adhesion molecule-1 ; TGF- β : transforming growth factor- β .

Figure 3 : Propriétés pharmacodynamiques des glucocorticoïdes à l'échelon moléculaire, d'après (13)

Macrophages

Inhibition de la différenciation, de la myélopoïèse, de l'expression des antigènes HLA de classe II induite par l'interféron- γ , de la production de cytokines, de prostaglandines et de leucotriènes, inhibition du chimiotactisme et de la phagocytose, diminution de l'activité tumoricide, fongicide et bactéricide des macrophages activés

Polynucléaires neutrophiles

Inhibition de leur adhésion aux cellules endothéliales freinant leur afflux sur les lieux de l'inflammation. Leurs fonctions ne sont que peu altérées par les corticoïdes

Polynucléaires éosinophiles, basophiles et mastocytes

Inhibition de la libération IgE-dépendante d'histamine et de leucotriène C4 par les basophiles et de la dégranulation des mastocytes

Lymphocytes

Lymphocytes T : inhibition de la production, de la prolifération et des fonctions des lymphocytes T *helper*, suppresseurs et cytotoxiques avec production préférentielle de cellules de la voie Th2 et inhibition des cellules de la voie Th1

Lymphocytes B (moins sensibles que les lymphocytes T) : inhibition de la prolifération des lymphocytes B, effets minimes sur les plasmocytes et la sécrétion d'immunoglobulines

HLA : human leukocyte antigen ; Ig : immunoglobulines.

Figure 4 : Activité des glucocorticoïdes à l'échelon cellulaire, d'après (13)

Les DC ont en plus la particularité de modifier les fonctions immunitaires spécifiques de la peau en diminuant le nombre de cellules de Langerhans et en altérant la fonction de présentation de l'antigène des cellules de Langerhans aux lymphocytes T (12). Une autre particularité de la forme topique est l'effet vasoconstricteur dermique qui fait partie intégrante de l'activité anti-inflammatoire. Il permet localement de diminuer l'érythème et l'œdème et donc d'agir sur les manifestations cliniques de l'inflammation. Cette propriété de vasoconstriction sert de support au test de McKenzie qui permet de comparer sur la peau humaine l'efficacité des différents DC entre eux et d'établir ainsi une échelle de puissance. Cet auteur ayant décrit une corrélation entre l'intensité de la vasoconstriction, quantifiée par le blanchiment de la peau, et l'activité anti-inflammatoire du DC testé (14).

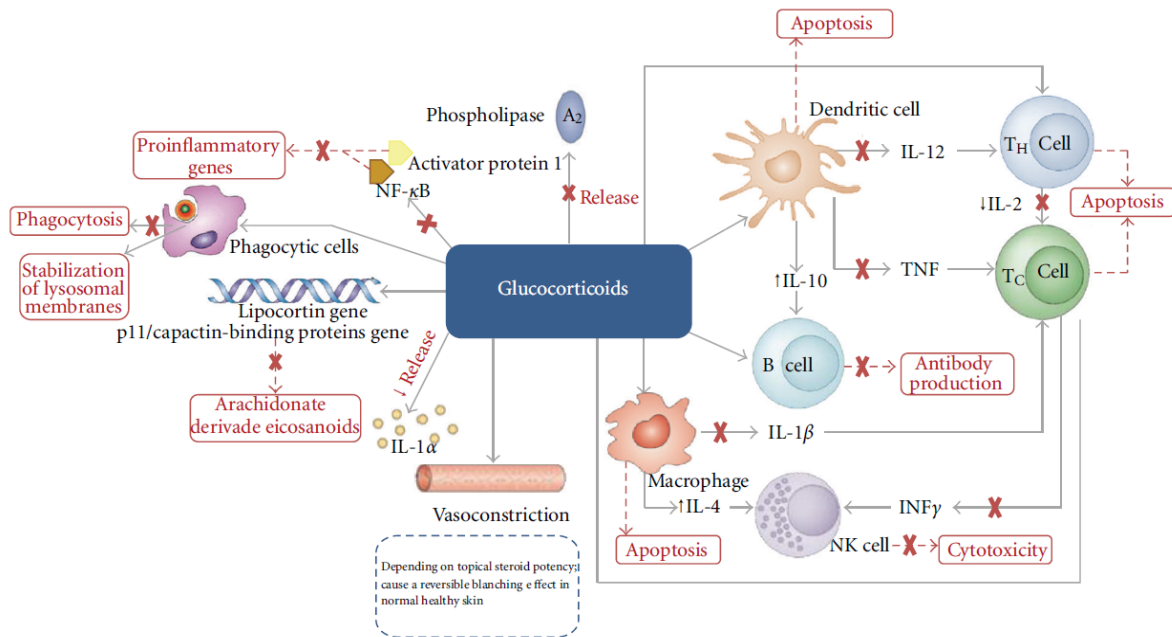


Figure 5 : Effets anti-inflammatoires, immunosuppresseurs et vasoconstricteurs des glucocorticoïdes, d'après (15)

1.1.3.2 Activité antimitotique ou antiproliférative

Les DC inhibent la multiplication cellulaire et la synthèse de l'ADN de nombreuses cellules de la peau. Les kératinocytes subissent une diminution de taille et d'index mitotique conduisant à une atrophie épidermique réversible. Les mélanocytes se raréfient provoquant un effet dépigmentant à long terme. La synthèse de collagène et de protéoglycanes par les fibroblastes du derme est diminuée et la structure des fibres élastiques est altérée, ceci ayant pour conséquence une atrophie dermique difficilement réversible, source de vergetures. Ces propriétés sont à l'origine d'effets indésirables locaux, mais peuvent aussi être utilisées dans un but thérapeutique, en particulier dans le psoriasis (diminution du "turn-over" des kératinocytes) ou dans les cicatrices chéloïdes (effet atrophiant dermique recherché). L'effet antiprolifératif des DC est développé dans le chapitre 3.

1.1.3.3 Les autres propriétés des GC

Les GC exercent de multiples effets métaboliques ainsi que sur de nombreux organes, d'intensité plus ou moins marqué.

- Ils induisent un effet hyperglycémiant par augmentation de la synthèse hépatique du glucose et par diminution de son utilisation périphérique.
- Ils augmentent la lipolyse et induisent par ailleurs une modification de la répartition des graisses corporelles (lipodystrophie) dont le mécanisme reste mal connu.

- Ils induisent des modifications complexes du métabolisme osseux parfois à l'origine d'une ostéoporose.
- Ils inhibent la captation de glucose par les muscles ce qui peut entraîner une réduction de la masse musculaire associée à une fatigabilité voire une amyotrophie. Par ailleurs, les acides aminés circulants sont moins facilement incorporés dans les muscles et sont par ailleurs libérés des tissus pour être intégrés dans la néoglucogénèse.
- Ils exercent une action minéralocorticoïde très modérée (en particulier les GC de synthèse). Si le cortisol peut discrètement favoriser la réabsorption hydrosodée au niveau du tubule distal et des tubes collecteurs rénaux, il peut aussi dans certaines circonstances faciliter l'excrétion sodée en augmentant le volume de filtration glomérulaire. L'hypertension artérielle cortico-induite n'est pas expliquée par une rétention hydrosodée dans la mesure où la régulation de la natriurèse ne permet pas de la normaliser. Ces mécanismes ne sont toujours pas bien compris. Contrairement à une idée reçue, il n'a pas été clairement établi que les GC de synthèse pouvaient induire une hypokaliémie.
- Ils exercent un rétrocontrôle négatif sur l'axe corticotrope. La diminution physiologique du cortisol endogène est d'autant plus forte que les posologies de GC sont importantes et que la demi-vie biologique de la molécule prescrite est longue.
- Ils induisent fréquemment des effets neuropsychiatriques d'ordre thymique ou psychotique. Ils affectent aussi la mémoire et les capacités cognitives.
- Les formes topiques peuvent induire une atrophie cutanée, des retards de cicatrisation, un hirsutisme ou des lésions acnéiformes.
- Ils peuvent augmenter le risque de glaucome et de cataracte.

Ces effets sont néanmoins limités voire inexistant dans le cas des DC du fait de leur faible passage systémique, dans les conditions normales d'utilisation.

1.1.4 La pharmacocinétique des DC

La biodisponibilité cutanée, c'est-à dire la pénétration transépidermique et transfolliculaire, dépend d'une part des caractéristiques chimiques intrinsèques de la molécule et d'autre part de nombreux autres facteurs propres à la voie cutanée. La connaissance de la pharmacocinétique des produits finis est primordiale car elle est conditionne l'efficacité et la survenue des effets indésirables.

Les caractéristiques chimiques intrinsèques influençant la pénétration sont :

- la liposolubilité de la molécule (plus la molécule est liposoluble plus elle pénètre facilement),
- la taille et la polarité qui conditionnent la libération de la molécule active du véhicule,
- la diffusion transdermique,
- la pénétration à travers la membrane plasmique pour atteindre sa cible,
- son métabolisme cutané.

La pénétration cutanée du GC est aussi conditionnée par le temps de contact avec la peau, sa concentration et la surface traitée (Figure 6). Par exemple, la loi de Fick est un modèle théorique qui permet de prédire les quantités absorbées (Q) en fonction de la concentration (C) par la formule : $Q = K_p * S * t * C$; où S est la surface d'application, t le temps d'application et Kp, le coefficient de perméabilité. Kp est défini par le produit du coefficient de partage avec le coefficient de diffusion au sein du stratum corneum, divisé par l'épaisseur de stratum corneum. Cependant cette loi théorique ne prend pas en compte les facteurs mathématiquement imprévisibles liés à la voie cutanée chez l'homme comme :

- La localisation de la lésion. La pénétration est augmentée au niveau des régions occluses.
- L'âge. Chez le nouveau-né à terme et l'enfant, il semble ne pas exister de différence majeure de perméabilité (à surface traitée égale) par rapport à la peau de l'adulte. En revanche, l'absorption des DC est plus importante chez le nouveau-né prématuré en raison d'une immaturité cutanée, proportionnelle à l'importance de la prématurité. La perméabilité cutanée diminue progressivement après la naissance pour devenir identique à celle d'un enfant à terme, avec un délai d'environ 15 jours (16). Chez le sujet âgé, la biodisponibilité des DC n'a pas été évaluée. On pourrait attendre une augmentation de la pénétration en raison de l'atrophie épidermique, mais les données concernant d'autres substances ne semblent pas montrer de différence majeure en fonction de l'âge du patient (13).
- L'intégrité de la peau. L'altération de l'épiderme augmente la pénétration.

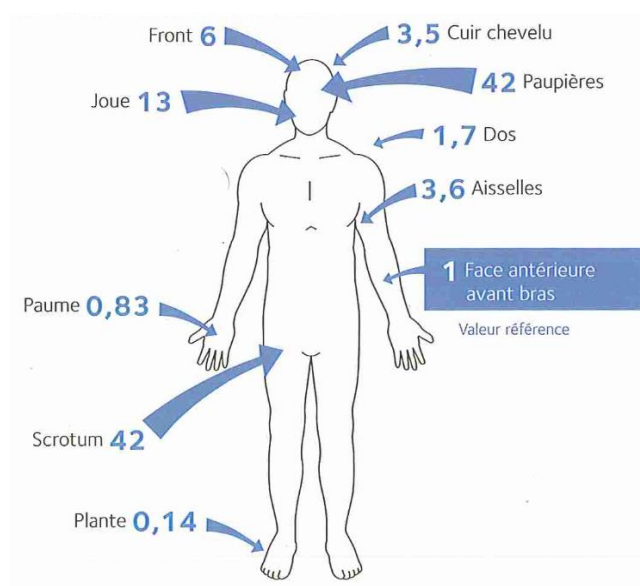


Figure 6 : Résorption de l'hydrocortisone appliquée par voie topique en fonction de la localisation, d'après (17)

Enfin, des facteurs liés aux formes galéniques peuvent aussi grandement influencer la pénétration. On notera par exemple que la nature des excipients est importante et que les pommades et les émulsions, plus grasses, augmentent la pénétration et que le propylène glycol augmente la solubilisation dans les excipients. L'adjonction d'additifs tels que l'acide salicylique comme kératolytique ou l'urée comme agent hydratant de la kératine représente aussi un moyen d'augmenter la pénétration cutanée. Enfin l'occlusion favorise la pénétration jusqu'à 10 fois par augmentation de l'hydratation de la couche cornée, de la température cutanée et de la durée de contact (17). Afin d'illustrer l'influence des excipients sur la pénétration cutanée et donc sur l'effet pharmacologique, prenons l'exemple du desonide qui est le principe actif que l'on retrouve dans trois crèmes : le Tridésonit®, le Locapred® et le Locatop®. Pour une même forme galénique, mais des excipients différents, la pénétration du principe actif et sa puissance varient. En effet, le test de vasoconstriction, qui permet d'évaluer la puissance des DC, classe le desonide tantôt dans le groupe II de puissance (activité modérée) pour le Locapred®, tantôt dans le groupe III (activité forte) pour le Locatop®. Une autre illustration intéressante de l'impact des véhicules sur l'activité pharmacologique des DC est celui du Tridésonit 0,05%® et du Locapred 0,1%®. Ces deux crèmes contiennent le même principe actif, le desonide, à des concentrations différentes mais font pourtant partie du même groupe de puissance (groupe II).

1.2 Les indications des DC (13,17)

Les pathologies dermatologiques sensibles aux DC sont nombreuses. Les DC sont aussi bien des traitements d'attaque que des traitements d'entretien. Les effets locaux recherchés par l'application de DC sont les effets anti-inflammatoires, immunosuppresseurs, antiprolifératif et antiprurigineux. Ainsi les autorisations de mise sur le marché des DC sont pour les principales : la dermatite atopique, le psoriasis, les

lichenifications, la sclérodermie, la pemphigoïde bulleuse, le lupus cutané discoïde, la pelade, l'eczéma de contact, les cicatrices chéloïdes, les piqures d'insecte et les coups de soleil.

Dans les dermatoses chroniques, il est nécessaire de choisir en première intention le DC d'activité la plus faible capable de contrôler les symptômes. Lors de la prescription il faut aussi tenir compte de l'étendue de l'affection car plus la surface traitée est importante, plus les effets systémiques sont à redouter. Le siège des lésions et l'âge du patient conditionnent aussi le choix du traitement.

Les DC d'activité très forte doivent être réservés à des dermatoses particulières comme des plaques résistantes de psoriasis ou les atteintes palmo-plantaires. Les DC d'activité forte ne sont pas recommandés chez l'enfant et sur le visage en utilisation chronique. Les DC d'activité modérée sont prescrits pour les zones très fragiles comme les paupières. Ils servent aussi de relais aux DC plus forts.

Enfin, le choix de la forme galénique est fonction du type de lésion. En effet, les pommades sont adaptées aux lésions très sèches, non suintantes et propres ainsi qu'aux dermatoses kératosiques mais sont contre-indiquées dans les plis ou sur les lésions suintantes (risque de macération) pour lesquelles les crèmes sont indiquées. Les lotions et gels alcooliques sont adaptés aux zones pileuses et en particulier au cuir chevelu et sont contre-indiquées en cas de lésions suintantes. Les gels, très cosmétiques, ne sont pas toujours bien tolérés et peuvent entraîner une irritation locale. Les lésions buccales peuvent être traitées par des tablettes adaptées, par des aérosols ou par des bases fluides. De toutes les formes galéniques, les crèmes sont les plus utilisées car très agréables du point de vue cosmétique.

1.3 La posologie des DC

La voie cutanée a une particularité que d'autres voies d'administration n'ont pas et qui se nomme l'effet réservoir. En effet, lorsque la couche cornée de l'épiderme n'est pas ou peu altérée, les DC ont la capacité de s'accumuler dans la couche cornée pour être relargués ensuite progressivement vers les couches plus profondes de l'épiderme et du derme. Ce phénomène disparaît lorsque la couche cornée est altérée lors de desquamation importante, lors de dermatose érosive ou lors de lésions de grattage. C'est l'effet "réservoir" qui explique qu'une seule application par jour soit suffisante dans la majorité des cas. L'augmentation du nombre d'applications quotidiennes peut toutefois être proposée lors du traitement initial des dermatoses suintantes et/ou excoriées, bien que certaines études ne retrouvent pas de différences d'efficacité entre une ou deux applications de DC par jour sur des lésions d'eczéma et de psoriasis (18).

Depuis leur mise sur le marché, le rythme d'utilisation, les précautions d'emploi, les risques et les effets indésirables des DC ont toujours fait couler beaucoup d'encre. Cependant, paradoxalement, encore aujourd'hui aucune posologie quantitative précise n'apparaît dans les notices ou les résumés des caractéristiques du produit, comme cela existe pourtant pour tout médicament. Par exemple pour le propionate de clobétasol, considéré comme le DC le plus puissant, on retrouve dans les résumés des

caractéristiques du produit : « *Le traitement doit être limité à une à deux applications par jour* », soit du simple au double. Touraine et Revuz résument d'ailleurs parfaitement la problématique par « *La posologie des traitements locaux est habituellement ignorée. Ce fait peut entraîner deux conséquences opposées : arrêt rapide du traitement faute de la quantité nécessaire ; effets systémiques dus à une utilisation trop généreuse* » (19). En effet, ces produits sont généralement prescrits de façon imprécise et les explications données aux patients sur la quantité à utiliser sont trop souvent insuffisantes. Un outil a néanmoins été proposé en 1989 afin de préciser les prescriptions ; il s'agit de « l'unité phalange » . Elle est définie par la quantité de crème ou de pommade sortie d'un tube, dont le diamètre de l'orifice est de 5 mm, déposée sur toute la longueur de la phalange distale de l'index. Cette quantité correspond chez l'homme à 0,5 g et permet de traiter une lésion d'une surface de 312 cm² soit approximativement la surface de deux paumes de main (20). Des abaques ont aussi été établis pour adapter cette unité aux enfants (Figure 7). Bien que l'unité phalange ait le mérite d'apporter une information sur la quantité à appliquer et améliore l'observance, elle est malheureusement peu conseillée par les dermatologues français, peut-être par méconnaissance. Pourtant récemment, l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament a fait apparaître cette unité de mesure dans la notice d'utilisation du Flixovate® pommade 0,005%. Une autre raison à cette réserve des dermatologues à prescrire en unité phalange est que, selon certains, l'approche quantitative quotidienne risque d'augmenter les réticences et craintes infondées des parents vis-à-vis des DC. De ce fait, la plupart des dermatologues préfèrent prescrire un nombre de tube à ne pas dépasser par unité de temps (en général mensuel). L'observance du traitement pourra alors être évaluée, de façon grossière, par la quantification du nombre de tubes vides rapportés par le patient.

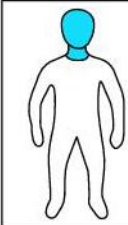
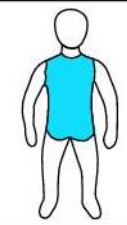
					
	Face et cou	Bras et main	Jambe et pied	Tronc (face antérieure)	Tronc (face postérieure)
Âge	Nombre de FTU				
3-6 mois	1	1	1 1/2	1	1 1/2
1-2 ans	1 1/2	1 1/2	2	2	3
3-5 ans	1 1/2	2	3	3	3 1/2
6-10 ans	2	2 1/2	4 1/2	3 1/2	5

Figure 7 : Correspondance du nombre d'unité phalange (FTU) en fonction de la surface à traiter et de l'âge d'après (21)

1.4 *Les effets indésirables des DC (22)*

Comme tout médicament efficace, les DC ne sont pas dénués d'effets indésirables. Néanmoins il est très important de ne pas faire l'amalgame entre la corticothérapie générale et la corticothérapie locale, dont le passage systémique est limité. Il est possible de distinguer des effets indésirables locaux, systémiques et des effets propres à la classe pharmacologique que sont les GC. La rapidité d'apparition et la gravité de ces événements est fonction de la puissance du DC, de la durée d'utilisation, des excipients, de l'intégrité de la peau et de l'âge du patient.

1.4.1 **Les effets indésirables locaux**

Le plus fréquent lors de l'utilisation prolongée de DC est l'atrophie cutanée. L'atrophie épidermique entraîne une fragilité au moindre traumatisme et un retard de cicatrisation. Elle est réversible en quatre semaines de par le renouvellement kératinocytaire rapide. L'atrophie dermique, quant à elle, est irréversible et peut s'accompagner d'un purpura ecchymotique et/ou de vergetures au niveau site d'application.

Au niveau du visage les DC peuvent induire une acné, une rosacée dite stéroïdienne ou une dermite périorale.

Du fait de son activité immunosuppressive, les DC peuvent aggraver des infections type herpétique ou des lésions infectées type impétigo. Ce même mécanisme de perturbation de l'homéostasie du microbiome cutané est à l'origine de l'aggravation des rosacées existantes et des dermatites séborrhéiques.

L'application de DC puissant sur les paupières de patients à risques peut entraîner l'apparition d'un glaucome ou d'une cataracte.

Enfin les DC peuvent aussi induire, au niveau du site d'application, une hypertrichose et une hypopigmentation, en particulier sur les peaux foncées.

1.4.2 **Les effets indésirables systémiques**

En pratique les effets indésirables systémiques sont rares et c'est plutôt à un sous-dosage auquel on assiste régulièrement en particulier dans le cadre de traitement chronique comme pour la dermatite atopique. Les réels accidents des corticothérapies locales au cours du traitement de l'eczéma atopique ont été surtout observés et rapportés il y a une quarantaine d'années. Aujourd'hui, les molécules sont bien connues des dermatologues et leur manipulation est mieux contrôlée.

1.4.2.1 Effet indésirable de type hormonal

Une revue systématique récente portant sur 1269 articles publiés entre 1980 et 2011 a permis de montrer qu'il n'y avait aucune preuve d'un effet significatif de la freination de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien dû à l'absorption de DC chez l'adulte même quand il s'agit du traitement du psoriasis étendu ou

localisé au niveau du cuir chevelu (23). En effet, par exemple le cortisol sérique reste normal pour des posologies < 100 g/semaine de betaméthasone valérate (groupe III) ou 50 g/semaine de clobetasol propionate (groupe IV). De plus, une étude de Van Velsen *et coll.* menée chez l'enfant a démontré que les variations de la cortisolémie pouvant s'observer au début de traitement se normalisaient en 15 jours et étaient sans conséquences cliniques (24).

L'hypercorticisme aussi largement cité reste exceptionnellement rapporté, sur 127 cas déclarés aux centres de pharmacovigilance en France, un seul cas rapporté de syndrome de Cushing exogène douteux pour lequel le traitement par GC per os n'était pas précisé, et seulement cinq cas d'hypercorticisme ont été imputés aux DC. Au niveau international, Tempark *et coll.* ont confirmé l'incidence minime de l'hypercorticisme en recensant, durant ces 35 dernières années, seulement 43 cas imputés aux DC. Les patients étaient des enfants traités au long cours pour dermatite sévère et des adultes traités pour psoriasis sévère. Ces effets indésirables survenaient au bout de 3,8 mois d'application chez les adultes atteints de psoriasis (25).

Concernant l'ostéoporose, plusieurs études ont montré qu'il n'y avait pas de corrélation entre ostéopénie, ostéoporose et traitement par DC (24).

Chez l'enfant, la corticothérapie locale d'activité forte et prolongée est susceptible d'induire un retard de croissance mais il semble que cela soit temporaire, réversible et sans incidence sur la taille à l'âge adulte (26).

1.4.2.2 L'hypersensibilité aux DC

Les DC sont utilisés principalement pour traiter les lésions eczématiforme, cependant ils peuvent aussi être à l'origine d'un eczéma de contact par un phénomène allergique. La fréquence de ces réactions d'hypersensibilité aux DC est variable selon les séries et les pays, mais est estimée en France autour de 3,4% des eczémas et entre 0,2 et 5% des patients testés par patch-tests (4). Il s'agit donc d'un effet indésirable non exceptionnel, potentiellement dangereux qui peut contre-indiquer l'utilisation d'une spécialité topique ou, pour certaines molécules, contre-indiquer un grand nombre de spécialités, per os ou injectables, par le phénomène de réaction croisée. En raison des propriétés anti-inflammatoires des CS, la présentation clinique de l'allergie de contact aux DC est atypique : elle doit être suspectée en cas de mauvaise réponse ou de résistance au traitement d'une dermatose classiquement corticosensible, devant un eczéma de contact œdémateux ou purpurique, parfois en fausses cocardes ou d'aspect annulaire et centrifuge. Nous avons récemment publié une mise au point sur les voies de sensibilisation, la nouvelle classification des hypersensibilités, la description séméiologique des lésions et la conduite à tenir pragmatique face à un patient sensibilisé (6).

1.4.2.3 Les effets sur la grossesse

L'impact des DC sur le fœtus a longtemps été débattu et fait l'objet de réticences au niveau des prescripteurs. Une récente analyse rétrospective sur 2658 femmes exposées au cours de leur grossesse aux DC comparées à 7246 femmes témoins a permis de démontrer (27) :

- qu'il n'y avait pas d'augmentation du risque de fentes palatines chez les enfants de femmes traitées par DC,
- que le poids de naissance des enfants dans le groupe de femmes traitées n'était pas significativement inférieur à ceux des femmes non traitées sauf pour l'utilisation de grandes quantités de DC d'activité forte ou très forte (300 g de crème durant la grossesse entière),
- que le risque de prématurité n'était pas augmenté chez les femmes traitées, de même que le risque de mort fœtale n'était pas non plus influencé,
- que ni le mode de délivrance (accouchement par voie naturelle ou césarienne) ni le score d'Apgar (évaluant la vitalité du nouveau-né) ne différaient entre les deux groupes.

A partir de ces données, le comité européen de dermatologie a émis des recommandations et autorise l'application de DC de groupe I ou II chez la femme enceinte.

1.4.3 **Les effets indésirables de la classe des GC**

La tachyphylaxie, autrement appelée phénomène de tolérance, se traduit par l'apparition d'une résistance de la dermatose au traitement après applications prolongées et ininterrompues. Elle apparaît d'autant plus vite que le DC est puissant et que la formulation est concentrée. En outre, bien que l'efficacité diminue, les effets indésirables, eux, peuvent toujours être présents et voire même accentués. Les cas de tachyphylaxie avérés les plus extrêmes, peuvent être à l'origine d'une dépendance au produit et d'une escalade dans les doses et les concentrations afin de pallier à l'inefficacité du traitement. Cependant, avant d'affirmer un réel phénomène de tachyphylaxie, il est important de bien évaluer l'observance. En effet, en pratique, et certains auteurs l'ont bien démontré, la diminution de l'efficacité est le plus souvent dû à un mésusage ou une inobservance plutôt qu'à un phénomène de tachyphylaxie (28–30).

La problématique de l'observance thérapeutique en dermatologie et notamment dans la dermatite atopique a été étudiée à plusieurs reprises (31–33). En 2003, Beattie *et coll.* analysaient les causes de la mauvaise adhésion au traitement dans la dermatite atopique chez 100 enfants. Cette équipe a mis en évidence les facteurs suivants : le manque de temps, le refus de soins de l'enfant, mais surtout le manque de connaissances à l'origine de craintes, concernant l'utilisation des DC (34). C'est cette notion de crainte ou de réticence à l'utilisation des DC qui est dénommée dans la littérature « corticophobie », bien qu'il ne s'agisse pas d'une phobie au sens psychiatrique car cette peur est parfois raisonnée. Cette crainte touche

tout de même 40 à 80% des patients traités pour une dermatite atopique (32,35–37). Les facettes de la corticophobie sont multiples et les craintes sont variables tant par leur intensité que par leur objet. Les patients craignent aussi bien les effets secondaires cutanés ou systémiques et que la survenue d'une dépendance ou encore d'une perte d'efficacité. Tout émane de l'amalgame illégitime des effets des GC *per os* avec ceux de DC. S'ajoute à cela le discours des soignants aussi bien des généralistes, des pharmaciens que des dermatologues, le manque de qualité et de clarté de l'information transmise, la divergence des discours et l'avis de l'entourage que ce soit les amis et la famille mais aussi les medias tels que les magazines, la télévision et internet.

La corticophobie peut être considérée comme un effet indésirable car elle est à l'origine de la majorité des échecs thérapeutiques de par le manque d'observance qu'elle entraîne (31,32,34,35). Les conséquences de l'inobservance sont majeures et sont à l'origine de l'inefficacité du traitement, de la prolongation des poussées de la maladie et des complications telles que les lichenifications par le grattage et l'impétiginisation. De plus, l'évaluation de l'efficacité par le dermatologue devient impossible. Les principales règles pour lutter contre la corticophobie reposent sur la recherche systématique de cette crainte, pas souvent avouée spontanément, sur l'écoute du patient sur ses croyances et sur la dédramatisation de l'application des DC. Pour ce dernier point le meilleur moyen est la démonstration pratique par le prescripteur. Enfin, le prescripteur doit lui-même se questionner sur sa propre corticophobie notamment pour le choix des mots de son discours. En réalité nombreux sont les médecins corticophobes qui s'ignorent et qui parasitent leur discours par des phrases du type : « malheureusement, nous sommes obligés d'utiliser les corticoïdes », « n'en mettez pas trop », « faites attention », « lavez-vous bien les mains »...). Ce discours renforçant la corticophobie des patients.

Des informations complémentaires sur ce phénomène, illustrées d'un cas clinique d'un jeune patient que nous avons vu dans le service de dermatologie sont disponibles en Annexe 1.

Pendant plusieurs années, la décroissance posologique sur plusieurs semaines était de rigueur avec les DC au même titre que la corticothérapie *per os*. Cette pratique avait été adoptée car des phénomènes de rebond de la pathologie à l'arrêt du traitement avaient été décrits et non dans le but de prévenir des effets indésirables hormonaux (22). A l'heure actuelle les cliniciens s'accordent à dire que la fréquence et la sévérité de ce phénomène sont peu documentés et peu pertinents en clinique et qu'une décroissance posologique n'est pas nécessaire (38). Elle est cependant parfois nécessaire dans certaines dermatoses sévères chroniques traitées par de grandes quantités de DC comme la pemphigoïde bulleuse.

1.5 La classification des DC

1.5.1 Le test de vasoconstriction ou vasoconstrictor assay (VCA)

1.5.1.1 Description et historique du VCA

Il existe actuellement en France une vingtaine de DC différents. Cependant, en raison de la variété des excipients proposés pour une même molécule et des associations multiples (antibactériens, antiseptiques, antifongiques, anesthésiques locaux et acide salicylique), on dénombre sur le marché français une centaine de spécialités contenant des DC.

La classification des DC la plus utilisée est celle basée sur leur puissance et les regroupe en quatre classes : activité faible (groupe I), activité modérée (groupe II), activité forte (groupe III) et activité très forte (groupe IV). La détermination de la puissance est actuellement basée sur le test de vasoconstriction ou test de blanchiment décrit pour la première fois par McKenzie et Stoughton en 1962 (14). Ce test consistait à appliquer, au niveau des avant-bras de volontaires sains, différentes concentrations de DC en occlusion et d'évaluer visuellement le blanchiment de la peau après plusieurs heures (Figure 8). Quoiqu'en dise la pléthore d'articles concernant cette publication, la conclusion des auteurs étaient simplement de démontrer l'augmentation de la pénétration du DC par l'effet occlusif ; il n'était alors pas question d'évaluer leur puissance pharmacologique. C'est par la suite que l'effet vasoconstricteur a été relié à la puissance des DC en clinique (39). Une revue de la littérature publiée en 1984 révèle l'historique très intéressant du VCA (39). En effet, McKenzie et Stoughton ont, certes, utilisé en premier l'effet vasoconstricteur dans l'évaluation de la pénétration cutanée de DC mais c'est Stoughton seul en 1969 (40) qui a comparé pour la première fois l'effet vasoconstricteur de plusieurs DC. Puis dans les années 70, plusieurs études pilotes ont comparé des DC entre eux mais c'est finalement en 1977 qu'une publication anonyme fait état d'une classification détaillée de plusieurs DC et qui est la base de celle utilisée aujourd'hui (41). Depuis, il est admis que plus le blanchiment est intense plus le DC a une activité anti-inflammatoire puissante. Le phénomène de blanchiment s'expliquerait par l'interaction du CS avec certains récepteurs au niveau de l'endothélium vasculaire, induisant une vasoconstriction par augmentation de la sensibilité à la noradrénaline (42). En réalité le mécanisme est plus complexe et d'autres voies de signalisation semblent entrer en jeu rendant encore plus mystérieux le mécanisme complet (43). Deux phénomènes illustrent bien la complexité de la vasoconstriction des DC. Le premier est le phénomène de vasodilatation rebond qui suit la vasoconstriction et qui n'est toujours pas clairement expliqué à ce jour (44). Le second est la variabilité interindividuelle de la réponse au blanchiment. En effet, Haigh *et coll.* ont révélé que sur certains patients, même l'application d'une grande quantité de DC très puissant en occlusion ne provoquait aucun blanchiment. Cela explique pourquoi les volontaires des études de blanchiment sont présélectionnés afin d'exclure les «non-répondeurs » (39).



Figure 8 : Réponse typique au test de vasoconstriction après l'application de plusieurs dermocorticoïdes sur la face intérieure de l'avant-bras. D'après (39).

Ces mêmes auteurs ont d'ailleurs détaillé la méthodologie du VCA de manière très complète (39). Le test est effectué sur 10 à 15 volontaires sains ayant arrêté tout traitement pendant six semaines. L'expérimentation se déroule dans une pièce régulée en température et hygrométrie. Du ruban adhésif délimite 12 sites de 7x7 mm sur la partie antérieure des avant-bras. Les préparations sont codées par une tierce personne afin de préserver l'aveugle. Un millilitre de chaque préparation est extrait des seringues et étalé à l'aide d'une baguette en verre. Chaque DC est appliqué sur quatre sites. L'occlusion n'est pas obligatoire et dépend de l'objectif de l'investigateur. Six heures après l'application, les adhésifs sont retirés avec précaution afin d'éviter l'apparition d'un érythème, les avant-bras sont lavés au savon et à l'eau chaude et sont séchés. L'évaluation visuelle est réalisée par trois investigateurs indépendants à 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 18, 28 et 32 h sous éclairage standardisé. Les avant-bras des volontaires sont placés horizontalement sur la table d'examen. L'évaluation du blanchiment peut être réalisée de trois manières. La première consiste en un codage binaire (absence ou présence de blanchiment) qui est peu sensible et n'apporte que peu d'informations. La deuxième consiste à comparer par paire deux sites adjacents et d'apporter ainsi un classement relatif. Enfin, la dernière méthode est la plus utilisée et correspond à un « score visuel de blanchiment » déterminé à partir d'une échelle de vasoconstriction arbitraire divisée en 4 points : 0 = pas de réaction, 1 = faible, 2 = modéré, 3 = fort blanchiment. Les résultats de chaque site sont exprimés en pourcentage du score maximum possible (TPS) :

$$\% \text{TPS} = (\text{score actuel} / \text{TPS}) * 100$$

*Le TPS est égal à $4 * 3 * S * V$. Où : 4 = score maximal par site, 3 = nombre d'investigateur indépendant, S = nombre de sites par préparation par bras, V = nombre de volontaires.*

L'aire sous la courbe, calculée à partir du graphique représentant le % TPS en fonction du temps, est aussi souvent utilisée dans l'expression des résultats (Figure 9).

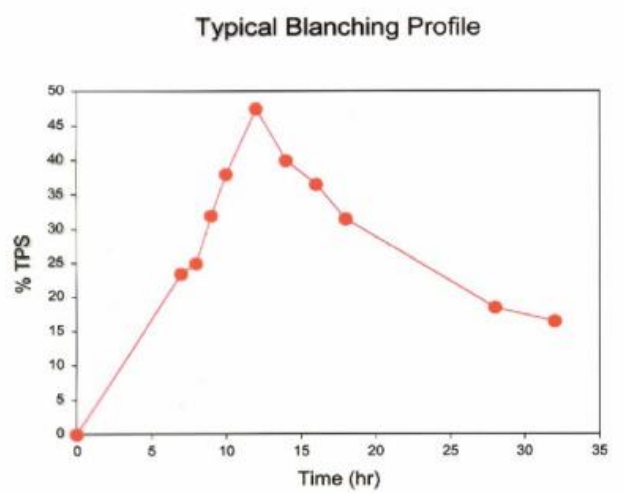


Figure 9 : Profil typique de blanchiment. D'après (45).

Outre l'évaluation de la pénétration, le VCA a servi à comparer l'effet pharmacologique de plusieurs molécules entre elles (46,47) et notamment de confronter les nouvelles molécules type mometasone furoate (48) aux anciennes déjà sur le marché. Le VCA a aussi conduit à comparer la biodisponibilité et l'efficacité de plusieurs formulations galéniques d'un même DC (49). Ce test sert à mettre en évidence une différence d'efficacité entre les DC princeps et leurs génériques (50,51). Encore aujourd'hui, le VCA est fréquemment employé dans la détermination de la stabilité du produit fini, de la posologie et de la fréquence d'application. Cependant, ce test ne mesure pas directement et explicitement l'efficacité clinique.

En raison de sa rapidité, de sa sécurité, de sa facilité de mise en place et surtout de son faible coût, l'industrie pharmaceutique s'est intéressée à ce test afin d'identifier parmi un grand nombre de molécules candidates, celles ayant le meilleur potentiel, pour initier des études cliniques (52). De plus, l'industrie utilise aussi le VCA dans la mise au point de nouveaux excipients ou formes galéniques (39).

1.5.1.2 Les modifications apportées au VCA

Depuis la description du VCA plus de 200 articles, utilisant cette technique dans l'évaluation des DC, ont été publiés sur MEDLINE. Les premiers articles ont cherché à confirmer ou à améliorer les résultats obtenus par cette équipe avant-gardiste que formaient McKenzie et Stoughton. Certaines études ont, par exemple, modifié les quantités de DC appliquées allant de 1,6 à 8 mg par site selon les auteurs. L'augmentation de l'effet vasoconstricteur était alors proportionnelle à la concentration jusqu'à une concentration maximum de saturation. A titre d'exemple, pour le betaméthasone 17-valérate, l'effet vasoconstricteur est maximum pour une quantité appliquée de 4,8 mg (53,54). Ces mêmes auteurs ont aussi investigué l'effet de l'occlusion et ont déterminé la durée de 6 h comme optimale pour obtenir une différence sensible entre les DC.

La méthodologie a aussi été remise en question et une étude a démontré qu'un minimum de 48 sites d'application sur au moins neuf volontaires évalués par deux observateurs représentaient les conditions optimales pour le VCA (55). Malgré le côté subjectif de la cotation, l'évaluation visuelle par plusieurs observateurs semble reproductible (43).

Pershing *et coll.*, quant à eux, ont démontré que le temps de contact du DC sur la peau influençait de façon très importante le résultat du VCA. Après avoir appliqué plusieurs formulations de betaméthasone dipropionate pendant 0,5, 6 ou 16 h, la lecture du blanchiment donnait un classement de la puissance très différent lorsque que le DC était appliqué pendant une courte période de 0,5 h (56) (Figure 10). Cela renforce l'idée que le temps d'application et le délai entre l'application et la mesure du blanchiment sont des paramètres cruciaux à maîtriser afin d'obtenir une classification juste.

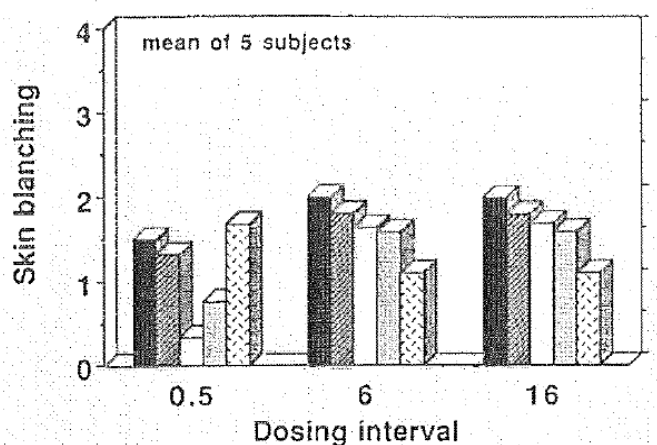


Figure 10 : Influence du temps de contact sur la classification du blanchiment cutané, in vivo, 18h après application de cinq formulations commercialisées de 0,05% de betaméthasone dipropionate. Application de 2,6 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ de peau. Par ordre : pommade optimisée, crème optimisée, pommade standard, crème standard, lotion standard.

Par la suite, Stoughton *et coll.*, ont reporté que la vitesse d'apparition du blanchiment maximum était corrélée avec la puissance. En effet, l'application d'un DC très puissant (clobetasol propionate) induit un blanchiment en 30 min alors qu'il est obtenu en 90 min avec l'application d'un DC d'activité modérée (fluocinonide) (57). Enfin, Henry *et coll.* se sont intéressés à une évidence, qui ne l'était pas tant, l'influence de la position du bras sur la valeur colorimétrique du blanchiment. Et de manière très surprenante, la rougeur (chromaticité a^*) pouvait varier jusqu'à 80% entre une position du bras vers le bas ou vers le haut (58). Ces derniers ont jugé la position du bras vers le haut comme étant la plus sensible mais difficilement réalisable en pratique.

En 1995, le VCA a été adopté par la Food and Drug Administration (FDA) des Etats-Unis. Des recommandations pour la réalisation de ce test dans l'évaluation de la bioéquivalence des DC ont alors été publiées (59). La FDA recommande dans un premier temps la réalisation d'une étude pilote pour chaque

DC afin de déterminer la durée de réponse et différents paramètres pharmacologiques. Dans un second temps, une étude clinique de bioéquivalence comparant plusieurs DC entre eux sera réalisée. L'étude pilote est réalisée sur 20 sujets sains, un même DC est testé sur 12 sites par patients. Les quantités appliquées peuvent aller de 2 à 10 mg/cm², les sites d'environ 1 cm de diamètre sont espacés de 2,5 cm. Des sites contrôles non traités sont aussi réalisés. L'étude peut se faire avec ou sans occlusion, l'occlusion étant plutôt recommandée pour évaluer l'effet de DC peu puissants. Le temps de contact peut varier et s'échelonner de 0,25 à 6 h. Les sites sont ensuite nettoyés et le blanchiment mesuré à différents temps à l'aide d'un spectromètre permettant de déterminer les différentes composantes de la couleur de la peau appelé chromamètre. Deux schémas d'étude peuvent être envisagés : une application de DC décalée dans le temps pour des mesures synchronisées ou des applications synchronisées pour des mesures décalées (Figure 11, Figure 12). Leopold *et coll.* ont montré, par la suite, l'équivalence de ces deux méthodes (60).

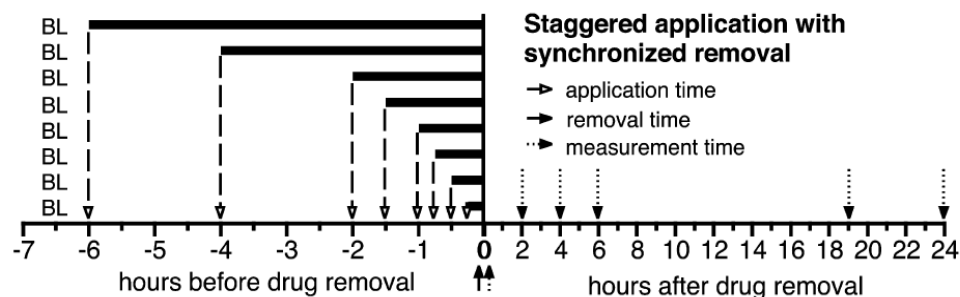


Figure 11 : Premier schéma d'étude proposé par la FDA : Applications de dermocorticoïdes décalées et retraits synchronisés. A gauche, application et retrait du médicament, BL : valeur basale (baseline). A droite, mesure du blanchiment cutané. D'après (60).

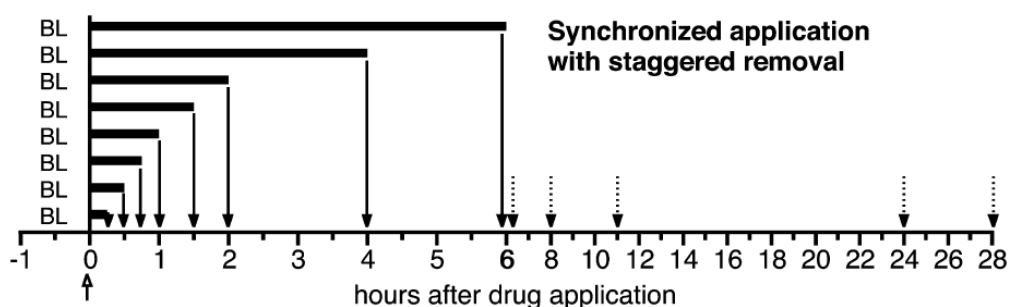


Figure 12 : Deuxième schéma d'étude proposé par la FDA : Applications de dermocorticoïdes synchronisées et retraits décalés. A gauche, application et retrait du médicament, BL : valeur basale (baseline). A droite, mesure du blanchiment cutané. D'après (60).

Quant à l'analyse des données, il est recommandé de comparer les aires sous la courbe, de calculer les effets maximum, de déterminer les doses induisant la moitié de la réponse maximale (ED₅₀) et de calculer la relation dose/réponse.

L'étude clinique de bioéquivalence sur plusieurs DC, recommandée par la FDA, doit être réalisée sur 40 à 60 sujets et suit les mêmes conditions que l'étude pilote. Sur 16 sites seront testés : le produit à évaluer à la dose proche de l'ED₅₀, un DC de référence, des doses extrêmes de chaque DC et des sites non traités serviront de contrôles. Le traitement des données sera identique à l'étude pilote.

Ces recommandations souples permettent aux investigateurs une certaine modulation des protocoles cliniques.

Il a fallu attendre un peu plus de 10 ans pour, qu'en 2006, l'agence européenne du médicament (EMA) valide ces recommandations américaines et les autorise sur le territoire européen.

1.5.2 Les autres outils d'évaluation de la vasoconstriction

L'évaluation visuelle du blanchiment de la peau comme décrit initialement, jugée trop subjective et nécessitant un entraînement spécialisé, a été remplacée par des outils plus fiables. L'objectif restait l'évaluation de la vasoconstriction. Le premier outil de biométrie mesurant la couleur de la peau était le chromamètre. Cet appareil utilisé dans l'industrie depuis de nombreuses années permet l'analyse tridimensionnelle de la couleur (teinte, saturation, clarté) selon trois réponses proportionnelles aux composantes trichromatiques (rouge, bleu, vert). La mesure donne trois valeurs : L* = luminance, a* = teinte et saturation du vert/rouge, b* = teinte et saturation du bleu/jaune. Les premiers travaux ont donc consisté à évaluer l'efficacité de cet outil et à le comparer au VCA (56,61,62). Sans surprise le chromamètre donnait des résultats plus reproductibles et plus répétables que l'analyse visuelle (62–64).

Puis l'analyse d'images numériques calibrées et l'utilisation de logiciel de traitement de l'image ont permis d'évaluer avec objectivité le blanchiment de la peau après application de DC (65).

L'effet vasoconstricteur des DC a aussi été évalué avec objectivité par laser Doppler et par spectroscopie par réflectance diffuse *in vivo* qui mesurent le flux sanguin du plexus vasculaire. Cependant, les résultats divergent en fonction des études du fait de la composante veineuse et non artérielle du phénomène ce qui rend la détection du blanchiment peu efficace (64,66–69).

La vidéocapillaroscopie, quant à elle, a permis de visualiser, grâce à sa caméra de haute résolution, une normalisation de la morphologie des anses capillaires au niveau de plaques de psoriasis traitées par DC (70–72).

1.5.3 Les autres modèles d'évaluation de la puissance des DC

Bien que le chromamètre ait été validé par la FDA comme un outil fiable, certains auteurs ont critiqué l'imprécision de la mesure et la manipulation mathématique des données obtenues (73,74). De plus, de nombreux auteurs ont, par la suite, trouvé peu pertinent de déterminer la puissance globale des DC

uniquement sur leur effet vasoconstricteur. C'est pourquoi, des modèles *vivo* humains, des modèles *vitro* et même animaux ont été développés afin d'élargir les moyens de comparaison.

1.5.3.1 Expérimentation sur l'homme

L'allergie de contact au nickel a été utilisée dans de nombreuses études comme un modèle humain *in vivo* d'évaluation de la puissance des DC. L'induction d'une réaction allergique est obtenue par l'application d'une quantité contrôlée de nickel, chez des patients déjà connus comme sensibilisés. Ces expérimentations nécessitent l'accord d'un comité d'éthique. Ce modèle est fiable et reproductible pour une inflammation aigue, facile à obtenir par la simplicité de réalisation et le grand nombre de personnes sensibilisées dans la population générale. A partir de ce modèle, l'efficacité anti-inflammatoire des DC a été comparée selon différents critères comme : la restauration de l'intégrité cutanée par la mesure de la perte insensible en eau, la diminution de l'érythème par une mesure colorimétrique, l'effet vasoconstricteur à l'aide du laser doppler, l'amélioration clinique et la régression de l'œdème à l'aide de l'échographie cutanée (64,75–79).

D'autres équipes ont proposé de comparer l'efficacité de trois DC sur leur potentiel à inhiber une allergie de contact provoquée (80–82). L'effet anti-allergique était estimé par la régression de l'œdème évaluée par échographie cutanée 20 MHz. Bien que ces études aient eu le mérite d'apporter un angle d'évaluation différent du VCA, la résolution de l'échographie cutanée se révélait parfois trop grossière pour en faire un outil fiable. De plus, la diminution de l'œdème est un critère trop restrictif pour conclure à l'effet anti-allergique global du DC. Cette technologie aurait, cependant, montré de meilleurs résultats dans la mesure de la diminution de l'épaisseur des plaques de psoriasis traitées par DC (69).

Une publication isolée a utilisé l'huile de croton comme agent d'induction de l'inflammation afin de comparer l'effet anti-inflammatoire de cinq DC et a retrouvé un classement proche du VCA (83).

Afin d'explorer l'effet anti-inflammatoire des DC, d'autres équipes ont, par exemple, comparé leurs effets anti-érythémateux sur un érythème induit par des ultraviolets (84–86). Ou encore une étude plus invasive a évalué leur effet anti-inflammatoire après induction d'une inflammation par injection sous-cutanée de lipopolysaccharide purifiée de bactéries pyogènes type *Salmonella abortus equi* (pyrexial erythema test) (87).

Une autre approche à consister à prélever, de manière non invasive par « tape-stripping », différentes couches de kératinocytes par l'application répétée d'adhésif sur la peau puis de doser la quantité de principe actif que ce prélèvement contient. En termes de biodisponibilité et de pénétration, le « tape-stripping » était corrélé au VCA, ce qui signifie que plus la quantité de DC dans le *stratum corneum* était importante, plus le score de blanchiment augmentait (88,89). De plus, le « tape-stripping » peut servir à évaluer la pharmacocinétique des DC et a différencier la biodisponibilité de plusieurs formes galéniques, avec plus de précision que le VCA (90).

L'histamine est un médiateur puissant de l'inflammation et du prurit. Cela explique pourquoi plusieurs équipes se sont intéressées à ce critère pour évaluer la puissance des DC. Ces expérimentations ont permis de confronter l'effet de plusieurs DC sur la libération de l'histamine et sur la régression de papules œdémateuses histaminiques induites (91–96). Ce modèle nous a d'ailleurs permis de comparer et de classer huit DC selon leur capacité à induire une libération d'histamine (97). Nous avons alors démontré que leur puissance « histamino-libératrice » n'était pas corrélée avec celle donnée par la classification actuelle basée sur le VCA. Ce travail sera développé dans le chapitre 4.

L'autre approche, réalisée par des équipes plus contemporaines, consistait à utiliser de nouvelles technologies pour mesurer plus précisément l'effet anti-inflammatoire des DC. Les techniques d'imagerie innovantes telles que la microscopie confocale *in vivo* et la tomographie à cohérence optique (82) voient leurs applications s'étendre au domaine de l'inflammation cutanée. Une publication récente a d'ailleurs rapporté le suivi précis, par microscopie confocale, de l'efficacité de la betaméthasone sur une lésion de psoriasis (98). D'autres ont utilisé la thermographie infrarouge afin de discriminer l'effet de plusieurs DC et ont révélé que cette technologie permettait une détection dès la troisième heure alors que le VCA ne peut le faire qu'à partir de la sixième heure (99).

Enfin, dans les essais cliniques, la mesure quantitative n'est pas le seul critère d'évaluation de l'efficacité clinique des DC. En effet, la médecine fondée sur les faits, traduit « Evidence-Based Medicine », représente le moyen d'évaluation le plus répandu dans les essais cliniques. Elle consiste à se baser sur l'amélioration de l'état clinique pour juger de l'efficacité d'un traitement. Pour les DC, de nombreuses études sont donc basées non pas sur un score de VCA mais sur une régression des lésions ou des symptômes, un espacement des récurrences, l'amélioration de la qualité de vie ou à l'inverse l'apparition d'effets indésirables (100–104).

1.5.3.2 Expérimentation *in vitro*

Lehman *et coll.*, ont confronté le test de « perméabilité *in vitro* » (évaluation pharmacocinétique) au VCA (évaluation pharmacodynamique), dans l'évaluation de la biodisponibilité du clobetasol propionate. Ce test, réalisé sur explant de peau, consistait en une cellule de diffusion de Franz dont les surnageants étaient ensuite dosés par chromatographie en phase liquide à haute performance. Comparé au VCA, le test *in vitro* a montré une meilleure sensibilité dans la détection du clobetasol propionate, un coefficient de variation entre les mesures plus faibles et a permis de distinguer avec précision les différences entre les formes galéniques testées (pommade, crème, gel, solution) (105).

Enfin, un autre modèle *in vitro* plus anecdotique a étudié la capacité des DC à réduire le nombre et la fonctionnalité des cellules de Langerhans intra-épidermique (106). L'approche scientifique, pourtant intéressante, n'a pas pu être validée de par la mauvaise reproductibilité et la difficulté de la manipulation.

1.5.3.3 Expérimentation animale

Quelques modèles animaux ont aussi été étudiés. Certains ont permis de quantifier l'inhibition de l'infiltration de neutrophiles induite par irradiation UVA (107). D'autres ont utilisé des lignées de souris transgéniques afin de quantifier l'activité promotrice des DC sur la synthèse d'élastine (108). L'extrapolation avec l'homme étant limitée, du fait des différences anatomiques et physiologiques, ces modèles n'ont pas été davantage développés malgré des résultats prometteurs.

1.5.4 La remise en question de la classification des DC

1.5.4.1 Pourquoi ?

1.5.4.1.1 La classification différente d'un pays à l'autre

Bien que le VCA soit la base commune de la classification des DC, il existe une hétérogénéité de classification à travers le monde. Aux Etats-Unis, la classification est répartie en sept classes par ordre décroissant de puissance et prend en compte la forme galénique (Figure 13). Au Royaume-Uni ou en Allemagne, la classification est répartie en quatre classes par ordre croissant de puissance et ne prend pas en compte la forme galénique (Figure 14). En France, depuis la conférence de consensus sur la prise en charge de la dermatite atopique de l'enfant de 2005 nous avons adopté une classification « hybride » avec l'ordre croissant de la classification anglaise répartie en quatre groupes mais en y associant la prise en compte des véhicules comme la classification américaine (Figure 15). Avant 2005, la France avait sa propre classification en quatre classes réparties par ordre croissant.

Le manque d'harmonisation entre ces classifications sème la confusion au sein des soignants et des patients et rend la comparaison entre les pays impossible. De plus, pour ce qui est de la France, cette inversion de l'ordre, qui a bientôt 10 ans, n'est toujours pas connue de tous les prescripteurs voire même de nombreux dermatologues, ce qui est à l'origine de nombreux malentendus et même d'erreurs de prescription. Même les référentiels nationaux que sont VIDAL® et Thériaque®, confondent encore ces deux classifications. Nous avons même retrouvé pour certains DC, la coexistence des deux versions de la classification française (Efficort hydrophile 0,127%® et Diprolène® par exemple). Bien que nous ayons averti le site Thériaque® les discordances subsistent.

CLASS I Superpotent	
Clobex Lotion, 0.05%	Clobetasol propionate
Cormax Cream/Solution, 0.05%	Clobetasol propionate
Diprolene Gel/Ointment, 0.05%	Betamethasone dipropionate
Olux Foam, 0.05%	Clobetasol propionate
Psorcon Ointment, 0.05%	Diflorasone diacetate
Temovate Cream/Ointment/Solution, 0.05%	Clobetasol propionate
Ultravate Cream/Ointment, 0.05%	Halobetasol propionate
CLASS II Potent	
Cyclocort Ointment, 0.1%	Amcinonide
Diprolene Cream AF, 0.05%	Betamethasone dipropionate
Diprosone Ointment, 0.05%	Betamethasone dipropionate
Elocon Ointment, 0.1%	Mometasone furoate
Florone Ointment, 0.05%	Diflorasone diacetate
Halog Ointment/Cream, 0.1%	Halcinonide
Lidex Cream/Gel/Ointment, 0.05%	Fluocinonide
Maxiflor Ointment, 0.05%	Diflorasone diacetate
Maxivate Ointment, 0.05%	Betamethasone dipropionate
Psorcon Cream, 0.05%	Diflorasone diacetate
Topicort Cream/Ointment, 0.25%	Desoximetasone
Topicort Gel, 0.05%	Desoximetasone
CLASS III Upper Mid-Strength	
Aristocort A Ointment, 0.1%	Triamcinolone acetonide
Cutivate Ointment, 0.005%	Fluticasone propionate
Cyclocort Cream/Lotion, 0.1%	Amcinonide
Diprosone Cream, 0.05%	Betamethasone dipropionate
Florone Cream, 0.05%	Diflorasone diacetate
Lidex-E Cream, 0.05%	Fluocinonide
Luxiq Foam, 0.12%	Betamethasone valerate
Maxiflor Cream, 0.05%	Diflorasone diacetate
Maxivate Cream/Lotion, 0.05%	Betamethasone dipropionate
Topicort Cream, 0.05%	Desoximetasone
Valisone Ointment, 0.1%	Betamethasone valerate
CLASS IV Mid-Strength	
Aristocort Cream, 0.1%	Triamcinolone acetonide
Cordran Ointment, 0.05%	Flurandrenolide
Derma-Smoother/FS Oil, 0.01%	Fluocinolone acetonide
Elocon Cream, 0.1%	Mometasone furoate
Kenalog Cream/Ointment/Spray, 0.1%	Triamcinolone acetonide
Synalar Ointment, 0.025%	Fluocinolone acetonide
Uticort Gel, 0.025%	Betamethasone benzoate
Westcort Ointment, 0.2%	Hydrocortisone valerate
CLASS V Lower Mid-Strength	
Cordran Cream/Lotion/Tape, 0.05%	Flurandrenolide
Cutivate Cream, 0.05%	Fluticasone propionate
DermAtop Cream, 0.1%	Prednicarbate
DesOwen Ointment, 0.05%	Desonide
Diprosone Lotion, 0.05%	Betamethasone dipropionate
Kenalog Lotion, 0.1%	Triamcinolone acetonide
Locoid Cream, 0.1%	Hydrocortisone butyrate
Pandel Cream, 0.1%	Hydrocortisone probutate
Synalar Cream, 0.025%	Fluocinolone acetonide
Uticort Cream/Lotion, 0.025%	Betamethasone benzoate
Valisone Cream/Ointment, 0.1%	Betamethasone valerate
Westcort Cream, 0.2%	Hydrocortisone valerate
CLASS VI Mild	
Aclovate Cream/Ointment, 0.05%	Alclometasone dipropionate
DesOwen Cream, 0.05%	Desonide
Synalar Cream/Solution, 0.01%	Fluocinolone acetonide
Tridesilon Cream, 0.05%	Desonide
Valisone Lotion, 0.1%	Betamethasone valerate
CLASS VII Least Potent	
Topicals with hydrocortisone, dexamethasone, methylprednisolone and prednisolone	

Figure 13 : Classification américaine de la puissance des dermocorticoïdes, d'après (109)

POTENCY	% w/w	TG
Mild		Hydrocortisone
	1	Hydrocortisone acetate
	0.25	Methylprednisolone
	0.05	Alclometasone dipropionate
	0.01 0.1	Dexamethasone
	0.0025	Fluocinolone acetonide
	0.75	Fluocortyn butyl ester
	0.5	Prednisolone
Moderate	0.05	Clobetasone butyrate
	0.02	Triamcinolone acetonide
	0.005	Fluocinolone acetonide
Potent	0.05	Betamethasone dipropionate
	0.1	Betamethasone valerate
	0.025	Fluocinolone acetonide
	0.1	Hydrocortisone 17-butyrate
	0.05	Halometasone monohydrate
	0.1	Difflocortolone valerate
Very Potent	0.1	Halcinonide
	0.05	Clobetasol propionate

Figure 14 : Classification anglaise ou allemande de la puissance des dermocorticoïdes selon le British National Formulary, d'après (109)

Activité anti-inflammatoire	Dénomination commune internationale	Nom de spécialité	Formes galéniques	Concentration (%)
Très forte	Clobétasol propionate	Dermoval®	Crème, gel capillaire	0,05
		Clobex®	Shampooing	0,05
Forte	Bétaméthasone dipropionate	Diprolène®	Crème, pommade	0,05
		Betneval®	Crème, pommade	0,10
		Betneval® Lotion	Émulsion	
		Célestoderm®	Crème	
		Bétésil® 2,25 mg	Emplâtre médicamenteux	0,10
	Bétaméthasone dipropionate	Diprosone®	Crème, pommade, lotion	0,05
	Acéponate d'hydrocortisone	Efficort®	Crème hydrophile	0,127
			Crème lipophile	
	Difluprednate	Épitopic® 0,05 %	Crème, gel	0,05
	Fluticasone	Flixovate®	Crème	0,05
			Pommade	0,005
	Désonide	Locatop®	Crème	0,10
	Hydrocortisone butyrate	Locoid®	Crème, crème épaisse, émulsion fluide, lotion, pommade	0,10
	Diflucortolone valérate	Nérison®	Crème, pommade	0,10
		Nérison® Gras	Pommade anhydre	
Modérée	Amcinonide	Penticort® 0,1 %	Crème	0,1
	Bétaméthasone valérate	Célestoderm® Relais	Crème	0,05
	Difluprednate	Épitopic® 0,02 %	Crème	0,02
	Désonide	Locapred®	Crème	0,10
	Fluocinolone acétonide	Synalar® 0,01 %	Solution	0,01
		Synalar® 0,025 %	Crème	0,025
		Synalar® Gras 0,025 %	Pommade	0,025
Faible	Désonide	Tridésonit®	Crème	0,05
	Fluocortolone base + caproate	Ultralan®	Pommade	0,50
		Aphilan® démangeaisons	Crème	0,50
	Hydrocortisone	Biacort®	Crème	0,50
		Hydracort® crème	Crème	0,50
		Dermaspraid® démangeaison	Crème	0,50
			Solution	
		Mitocortyl® démangeaisons	Crème	0,50
		Hydrocortisone Kérapharm®	Crème	1
		Calmicort® 0,5 %	Crème	0,50
		Cortapaisyl® 0,5 %		
		Dermofenac® démangeaisons 0,5 %		

Tous les dermocorticoïdes de ce tableau sont remboursés à 65 %, à l'exception de Bétésil®, Célestoderm®, Célestoderm relais® et des dermocorticoïdes d'activité faible.

Figure 15 : Classification française de la puissance des dermocorticoïdes, d'après (13).

Très forte = groupe IV, forte = groupe III, modérée = groupe II, faible = groupe I.

1.5.4.1.2 Les faiblesses du VCA

Le VCA est un test qui a montré des faiblesses à plusieurs niveaux. Tout d'abord, comme précédemment cité, la réponse au test n'est pas systématique et certains sujets ne réagissent pas, même aux DC très puissants (39). Cela soulève d'ailleurs le manque de corrélation entre le VCA et l'efficacité clinique car ces patients « non-répondeurs » au VCA guérissent quand même de leurs dermatoses. Malgré les recommandations de la FDA, le mode opératoire n'est pas toujours respecté, comme en témoigne la littérature même contemporaine où les études diffèrent, et ces écarts peuvent engendrer de nombreux biais. Par exemple, Kirsch *et coll.* ont démontré qu'il existait un gradient de blanchiment le long des avant-bras

dont l'intensité augmentait du pli du coude au poignet (110). Cette variabilité de réponse au niveau des avant-bras peut faire douter de la reproductibilité et de la pertinence des résultats. Pershing *et coll.*, comme nous l'avons précisé précédemment, ont pu observer qu'il suffisait de diminuer le temps de contact avec le DC pour changer l'ordre de la classification (56). D'autres ont même remarqué que certains excipients pouvaient biaiser le résultat du VCA en induisant eux-mêmes un blanchiment artificiel par dépôt et manque de pénétration.

La précision du VCA peut aussi être remise en cause. En effet, nous avons vu précédemment avec le Locapred 0,1% ® et le Tridésone 0,05% ®, qu'un même DC pouvait avoir le même classement bien qu'il soit deux fois plus concentré. Certes, l'effet des excipients est à prendre en compte, cependant cette différence pourrait aussi être imputable au manque de finesse du VCA.

1.5.4.1.3 Le VCA teste la peau saine !

Enfin un détail important, le VCA est un test réalisé sur peau saine, or les DC sont destinés à traiter des zones enflammées ou prurigineuses. Il semble donc plus approprié de comparer l'efficacité des DC sur les lésions pour lesquelles ils sont prescrits. En effet, trop peu d'études comme celle menée par Cornell *et coll.* ont montré la corrélation entre le VCA et l'activité clinique sur des lésions de psoriasis (111). Comme le souligne Hengge *et coll.* le VCA représente un test *in vivo* non spécifique et le phénomène de vasoconstriction n'est pas obligatoirement lié à l'activité médiée par la fixation du DC à son récepteur (22). Et pour aller plus loin, Hepburn *et coll.* ont mené une étude comparative et ont retrouvé une différence entre l'efficacité clinique et la puissance annoncée par le VCA pour six DC sur 17 testés, ce qui représente donc une non-fiabilité du VCA pour 35% des DC testés dans cette étude (112).

1.5.4.2 Ce qui a déjà été réalisé

Différentes approches ont déjà été explorées dans la réévaluation de la classification des DC.

Plutôt que de classer les DC selon leur effet recherché, certains auteurs les ont classés selon leurs effets indésirables. Ainsi la connaissance de leur effet atrophiant (113–115), de leur impact sur la suppression de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (112) ou de leur potentiel allergisant (6) sont des informations importantes lors de la prescription. Des index thérapeutiques prenant en compte le rapport bénéfice/risque, intéressants en pratique, ont même pu être établis (Figure 16 et Figure 17) (116,117). La prise en compte du coût du traitement et de la sécurité d'emploi a aussi été explorée (112).

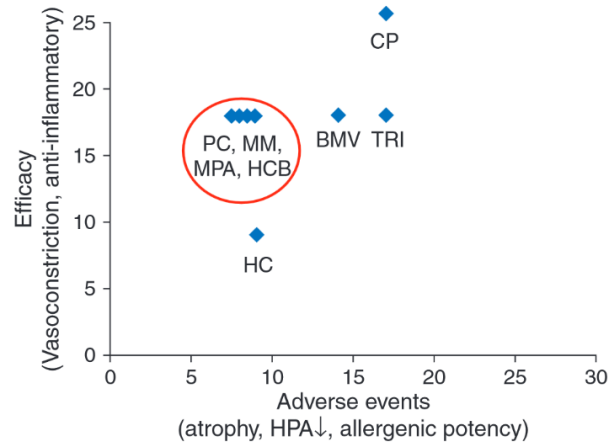


Figure 16 : Efficacité contre effets indésirables des corticostéroïdes. Une représentation de l'efficacité contre les effets indésirables (index thérapeutique) pour plusieurs dermocorticoïdes. Les dermocorticoïdes entourés ont un index thérapeutique proche de 2 ce qui témoigne d'un bon rapport bénéfice/risque. BMV=betamethasone valerate, CP=clobetasol propionate, HCB=hydrocortisone butyrate, PC=prednicarbate, HPA=axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien, MM=mometasone furoate, MPA=methylprednisolone aceponate, HC=halcinonide, TRI=triamcinolone acetonide. D'après (116).

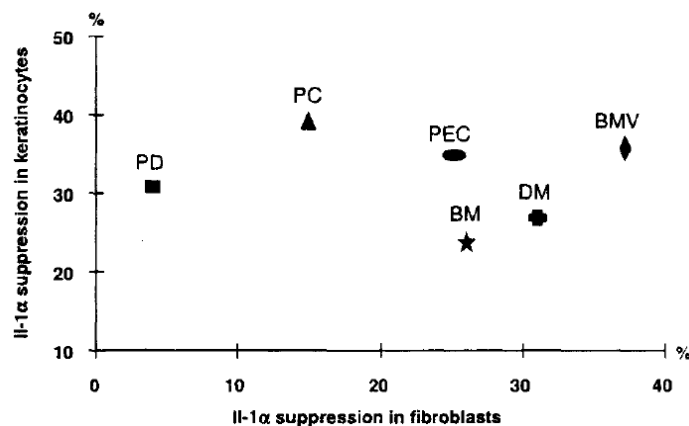


Figure 17 : Corrélation entre le bénéfice (suppression de la production d'IL-1 α par les kératinocytes=effet anti-inflammatoire) et le risque (suppression de la production d'IL-1 α par les fibroblastes=effet atrophiant) de différents CS à la concentration de 10⁻⁸M. BM=betamethasone, BMV = betamethasone 17-valerate, DCE=desoximethasone 21-cinnamate, DM=desoximethasone, PC=prednicarbate, PD=prednisolone, PEP=prednisolone 17-ethylcarbonate 21-phenylacetate. D'après (117).

Si aucune nouvelle approche ou méthode n'a pu encore détrôner le VCA, cela peut être dû aux données insuffisantes, aux études trop longues, trop coûteuses ou encore trop complexes à mettre en place.

1.5.4.3 Notre approche pour la remise en question de la classification de la puissance des DC

Le VCA reflète la puissance vasoconstrictrice du DC qui a ensuite été extrapolée à la puissance anti-inflammatoire. Lors du phénomène inflammatoire, la libération de cytokines pro-inflammatoires induit, certes, une vasodilatation mais aussi un érythème, un œdème, une augmentation de la température cutanée et un infiltrat inflammatoire. Devant ce phénomène plurifactoriel, il est judicieux de se demander pourquoi limiter le vaste effet anti-inflammatoire des DC au seul effet vasoconstricteur ? Pourquoi ne pas établir une classification de leurs puissances basée sur la régression de ces autres symptômes de l'inflammation ? D'autre part, l'effet anti-inflammatoire n'est pas le seul effet pharmacologique des DC, leurs cibles sont plus variées d'où leurs larges indications. En effet, le DC le plus vasoconstricteur n'est pas obligatoirement celui qui a le meilleur effet antihistaminique, antiprolifératif ou encore immunosuppresseur.

L'omniprésence de ces traitements dans les pharmacies de chacun et les risques potentiels d'une utilisation prolongée ou inadéquate, nous confortent dans l'idée que la puissance des DC doit être réévaluée. Nous proposons de réfléchir à une approche moderne par une classification adaptée à la situation clinique et à l'indication thérapeutique afin de rationaliser leur utilisation et définir précisément leurs modalités d'emploi.

C'est pourquoi nous nous sommes penchés sur trois indications majeures des DC :

1. l'effet anti-inflammatoire dans un contexte d'eczéma de contact,
2. l'effet antiprolifératif
3. l'effet anti-histaminolibérateur.

1.5.4.3.1 L'effet anti-inflammatoire dans un contexte d'eczéma de contact

Nous avons comparé, grâce à une étude clinique *in vivo*, l'effet anti-inflammatoire de quatre DC représentant chacune des quatre classes de la classification. Pour ce faire, nous avons induit une réaction d'eczéma de contact par apposition de Nickel pendant 48 h, chez des patients sensibilisés. Nous avons ensuite comparé la diminution des différents paramètres de l'inflammation à l'aide d'outils de biométrie objectifs. La régression de la rougeur était mesurée par chromamétrie, la diminution de la vasodilatation par le laser doppler, la diminution de la température cutanée par thermographie infra-rouge, la restauration de la barrière cutanée par la mesure de la perte insensible en eau et la régression de l'infiltrat inflammatoire et de l'œdème par microscopie confocale *in vivo*. Cette étude sera développée dans le chapitre 2.

1.5.4.3.2 L'effet antiprolifératif

Notre deuxième axe de recherche a été de comparer, *in vitro*, l'effet des GC sur la prolifération, le cycle cellulaire et l'apoptose de kératinocytes en culture. Cet effet est recherché dans le traitement du psoriasis, où la prolifération des kératinocytes est anarchique et continue. Notre travail a consisté à réaliser des tests de viabilité cellulaire, à explorer les mécanismes de la mort cellulaire et quantifier la prolifération cellulaire sur des kératinocytes hyperproliférant traités par six GC différents. Cette étude sera développée dans le chapitre 3.

1.5.4.3.3 L'effet anti-histaminolibérateur

Notre dernier axe de recherche a été de comparer l'effet anti-histaminolibérateur des DC. En effet, l'histamine est un médiateur important de la réaction inflammatoire et un des acteurs principaux du prurit. Les DC exercent une partie de leur effet anti-inflammatoire et antiprurigineux en inhibant la libération d'histamine. Nous avons réalisé une étude *ex vivo* sur explants de peau maintenus en survie plusieurs heures, que nous avons traités avec huit DC. La libération d'histamine était déclenchée par l'injection sous-cutanée d'anti-IgE et le dosage était réalisé par une technique de microdialyse qui consiste à insérer une aiguille en sous-cutané et de récolter le principe actif qui diffuse à travers la peau pour le dosage. Cette étude sera développée dans le chapitre 4.

Chapitre 2

*Les effets anti-inflammatoires et
antiallergiques des dermocorticoïdes*

2.1 Introduction

Les DC représentent une des classes pharmacologiques les plus prescrites en dermatologie et en médecine générale. Leurs activités anti-inflammatoire, immunosuppresseur, antiproliférative et antiprurigineuse sont recherchées dans le traitement de dermatoses variées telles que la dermatite atopique, le psoriasis, les lichenifications, la sclérodermie, la pemphigoïde bulleuse, le lupus cutané discoïde, la pelade, l'eczéma de contact, les cicatrices chéloïdes ou encore les piqures d'insecte et les coups de soleil. La puissance des DC est actuellement déterminée à l'aide du test de vasoconstriction ou test de blanchiment décrit par McKenzie et Stoughton en 1962 (14). Ce test, amélioré par plusieurs équipes et validés par la FDA et l'EMA, consiste à appliquer, au niveau des avant-bras de volontaires sains, différentes concentrations de DC en occlusion à évaluer visuellement le blanchiment de la peau après plusieurs heures. Ces auteurs ont déterminé que l'intensité de la vasoconstriction était corrélée à l'activité anti-inflammatoire des DC permettant ainsi de comparer et de classer la puissance des DC en groupes d'activité faible à très forte.

Le test de vasoconstriction présente cependant certaines limites, et comme le souligne Hengge *et coll.*, ce phénomène n'est pas spécifiquement lié à l'activité médiée par la fixation du DC à son récepteur (22). De plus, il a été démontré que la sensibilité du VCA ne permettait pas de détecter des diminutions de l'inflammation clinique de faible amplitude (118). Pour aller plus loin, Hepburn *et coll.* ont mené une étude comparative et ont retrouvé une différence entre l'efficacité clinique et la puissance annoncée par le test de vasoconstriction pour six DC sur 17 testés, ce qui représente donc une discordance du test pour 35% des DC testés dans cette étude (112). De plus, Haigh *et coll.* ont démontré que la réponse au test n'était pas systématique et que chez certains sujets aucun blanchiment n'était visible même après application de DC considérés comme très puissants (39). Kirsch *et coll.*, quant à eux, ont démontré qu'il existait un gradient de blanchiment le long des avant-bras dont l'intensité augmentait du pli du coude au poignet (110). Cette variabilité de réponse au niveau des avant-bras peut faire douter de la reproductibilité et de la pertinence des résultats. Enfin un détail important, le test de vasoconstriction est réalisé sur la peau saine, or les DC sont destinés à traiter des zones enflammées ou prurigineuses. Il semblerait donc plus approprié de comparer l'efficacité des DC sur les lésions pour lesquelles ils sont prescrits. L'induction de lésions d'eczéma de contact par apposition d'un allergène, tel que le nickel, représente un modèle, *in vivo*, d'inflammation fiable et reproductible comme cela a pu être décrit (119). Ce modèle a permis à plusieurs équipes d'évaluer avec objectivité et pertinence l'effet des DC sur différents critères de l'inflammation (64,75,76,79–81,118,120–122). Cependant ces études étaient limitées en termes de paramètres de l'inflammation mesurés et en termes de nombre de DC.

L'inflammation est un phénomène multifactoriel se caractérisant, entre autre, par l'apparition d'un érythème, d'une vasodilatation et par l'augmentation de la température cutanée. Dans un contexte d'allergie de contact s'y ajoute un prurit et une altération de la barrière cutanée avec apparition de lésions vésiculeuses et d'un infiltrat inflammatoire.

Plusieurs outils permettent de quantifier l'érythème, le plus utilisé et le plus fiable restant le chromamètre dont la mesure rapide fournit une valeur objective de la composante tridimensionnelle de la couleur de la peau (45,58,61,62,74). La vasodilatation des capillaires du derme entraîne une augmentation du flux sanguin qu'il est possible de quantifier, sans contact, à l'aide d'un laser doppler comme cela a déjà pu être démontré (64,69,123,124). La thermographie infra-rouge sans contact permet d'évaluer avec précision la température cutanée locale. L'intégrité de la barrière cutanée peut être évaluée par la mesure non-invasive de la perte insensible en eau (PIE). Plusieurs études ont d'ailleurs montré que la PIE était augmentée de manière significative dans un contexte de lésion cutanée inflammatoire, notamment causée par un patch-test allergologique (45,75,76,121,125). A l'aide de la mesure de la PIE, Jungersted *et coll.* ont même pu démontrer l'effet cicatrisant des DC et leur effet sur la restauration de la barrière cutanée endommagée (126). L'analyse non invasive de l'œdème et de l'infiltrat inflammatoire est rendue possible avec le développement de la microscopie confocale *in vivo*. Des critères microscopiques, sensibles et spécifiques, des lésions inflammatoires dans le cadre d'une allergie de contact tels que la spongiose, les vésicules ou l'infiltrat inflammatoire, ont pu être décrit avec précision (120–122,127).

Notre étude contrôlée contre véhicule seul avait pour objectif de comparer, de manière non-invasive, les effets de DC de groupe de puissance différents sur les principaux symptômes de l'inflammation cutanée que sont l'aspect clinique, l'érythème, la vasodilatation, la chaleur, le prurit, l'altération de la barrière cutanée, l'œdème et l'infiltrat inflammatoire.

2.2 Matériel et méthodes

2.2.1 Patients

Trente-trois patients (âge moyen : 38 ans ; âge médian : 40 ans ; dispersion : 20-51 ans) ont été recrutés au sein du service de dermatologie du CHRU de Besançon, France. Chaque patient a signé un consentement avant son inclusion dans l'étude. L'étude clinique a été autorisée par le Comité de Protection des Personnes (CPP Est-II) et par l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament (Eudra-CT 2012-002349-39) et a été réalisée selon les principes de la déclaration d'Helsinki. Tous les patients présentaient un antécédent d'eczéma de contact allergique au nickel diagnostiqué par un allergologue.

Douze patients ont été exclus, cinq pour cause de réactions allergiques au nickel insuffisantes, trois pour cause de réactions trop importantes et quatre patients perdus de vue. Les critères d'exclusion sont cités en Annexe 2. Le nombre de patients ayant terminé l'étude était finalement de 21 patients.

2.2.2 Protocole

Il s'agissait d'une étude prospective, randomisée, monocentrique, contrôlée en double aveugle. A J0, six sites ont été délimités sur la partie antérieure des deux avant-bras de chaque volontaire. Cinq patch-tests contenant 5% de nickel dilué dans la vaseline (8 mm aluminum Finn Chambers, Stallergènes, Antony, France) et un patch-test contenant de la vaseline seule, utilisé comme contrôle négatif, ont été appliqués symétriquement et de manière randomisée. La randomisation de ces sites avait pour objectif de s'affranchir de l'effet-site et de la variabilité de la réponse allergique en fonction de la localisation, comme cela a pu déjà être démontré (128). Une distance de 4 cm était respectée entre chaque patch-tests et avec le pli du coude et le poignet afin d'obtenir des réactions comparables et d'éviter les réactions adjacentes dues à la proximité des allergènes comme cela a pu être décrit précédemment (129,130). Les randomisations des sites d'application des patch-tests ainsi que de l'attribution du traitement sur les sites évalués ont été réalisées par un méthodologiste du Centre de Méthodologie Clinique du CHRU de Besançon. Les patch-tests ont été laissés en contact 48 h. A J3, les réactions eczématoïdes engendrées ont été évaluées selon la cotation clinique de l'International Contact Dermatitis Research Group (ICDRG) (Table I). Les patients présentant des lésions homogènes avec un score IDRGC ++ étaient retenus pour l'étude. A chaque visite (J3, 4, 5, 6, 7 et 10) et sur chaque site, l'évaluation clinique et les mesures instrumentales ont été réalisées après un temps d'acclimatation de 15 minutes : la salle de mesure était régulée en température $21 \pm 1.5^\circ\text{C}$ et en hygrométrie $51 \pm 9\%$. Après chaque temps de mesure, chacun des cinq sites enflammés recevait de manière aléatoire pour chaque patient, un des cinq traitements anonymisés (Figure 18).

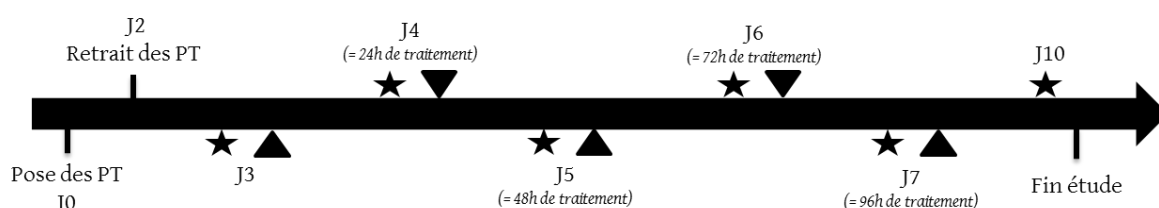


Figure 18 : Schéma du protocole de l'étude. PT = Patch-tests 5% Nickel dans vaseline.

Etoile = Evaluations. Triangle = Traitements.

2.2.3 Traitements

Les traitements étaient composés de quatre DC sous forme de crème (un représentant de chaque groupe de puissance) et d'un véhicule seul. Une même forme galénique a été choisie pour chaque traitement afin de s'affranchir de toute variation de pénétration transcutanée due à la galénique. Les DC étaient Dermoval®, groupe IV (clobetasol propionate 0,05%, GlaxoSmithKline, Marly-le-Roi, France); Betneval®, groupe III (betamethasone valerate 0,1% (BMV), GlaxoSmithKline, Marly-le-Roi, France); Locapred®, groupe II (desonide 0,1% (DN), Pierre Fabre Dermatologie, Boulogne, France); Hydrocortisone Kerapharm®, groupe I (hydrocortisone 1% (HC), Horus Pharma, Saint-Laurent-du-Var, France). Le véhicule seul était le Cold Cream (Codexial dermatologie, Vandoeuvre-lès-Nancy, France). 20 μ L de chaque crème étaient appliqués jusqu'à pénétration, une fois par jour, sur le site correspondant à l'aide d'un gant. Cette dose a été calculée à partir de la règle de prescription de l'unité phalange et le rythme est conforme aux recommandations des notices d'utilisation. Un pansement non occlusif était ensuite appliqué pour éviter toute diffusion des traitements sur les vêtements. Le pansement était retiré au minimum 2 h avant la visite suivante.

2.2.4 Evaluation clinique

La cotation clinique des sites a été réalisée à l'aide d'une échelle visuelle (Table II). Cette échelle est dérivée de la cotation clinique de routine utilisée en allergologie recommandée par l'ICDRG et adaptée aux études cliniques par Marks *et coll.* (131).

Des photographies de chaque site étaient réalisées à chaque visite (Figure 57).

2.2.5 Mesure du flux sanguin de la microcirculation cutanée par laser doppler

La microcirculation cutanée a été mesurée à l'aide d'un laser Doppler à balayage MOOR LDI® (Moor Instruments, Axminster, Devon, Royaume-Uni) qui est une technologie sans contact permettant de quantifier le flux sanguin. Le faisceau laser monochromatique (633 nm) balaye la zone étudiée (à une vitesse de 4 ms.pixel⁻¹) et calcule le flux sanguin moyen, exprimé en unité arbitraire (u.a), à partir de la réflexion des rayons par les hématies en mouvement. L'appareil est placé à 10 cm de la zone à évaluer. L'instrument est en mesure de fournir une image du flux avec une échelle colorimétrique graduée en 16 couleurs de 0 à 1000 u.a (Figure 55). Comme cela a pu être démontré auparavant cette technologie est appropriée pour la mesure des changements microcirculatoires cutanés après traitement local par DC. Elle a ainsi montré sa précision et sa fiabilité dans la détermination du degré de vasoconstriction (124).

2.2.6 Mesure de la couleur de la peau par colorimétrie

La couleur de la peau a été mesurée par colorimétrie à l'aide d'un chromamètre Konica-Minolta CR 400® (Minolta co, Ltd, Tokyo, Japon) qui est un spectrocolorimètre permettant l'analyse

tridimensionnelle de la couleur. La mesure consiste à émettre un flash de lumière standardisé et à analyser les rayons réfléchis par la peau et par les chromophores rencontrés. Les paramètres L^* a^* b^* que fournit l'appareil, validés par la Commission Internationale de l'Eclairage, sont particulièrement adaptés à la mesure de la couleur de la peau (61,62). Le paramètre L^* (luminance) correspond à la luminosité relative de la peau s'échelonnant du noir total ($L^*=0$) au blanc total ($L^*=100$). Le paramètre a^* représente la balance entre la couleur rouge (valeurs positives) et la couleur verte (valeurs négatives) et peut être relié à l'hémoglobine. Le paramètre b^* , représente la balance entre la couleur jaune (valeurs positives) et la couleur bleue (valeurs négatives) et peut être relié à la mélanine.

Chaque paramètre de la couleur est exprimé en unité arbitraire. Pour chaque site, les moyennes de trois mesures successives ont été calculées.

La peau érythémateuse est caractérisée par une augmentation de la couleur rouge (a^*) mais aussi à un assombrissement de la peau (diminution de L^*) (64).

L'analyse des paramètres L^* et b^* a porté sur 20 patients du fait de l'exclusion d'un patient pour lequel les valeurs de ces paramètres étaient anormaux à J3.

2.2.7 Mesure de la température cutanée par caméra thermographique infrarouge

La température cutanée a été mesurée à l'aide d'une caméra thermographique infrarouge sans contact de précision : $0,1^\circ\text{C}$ (Optris® GmbH, Berlin, Allemagne). La caméra était fixée sur un support à 17 cm de la zone à mesurer, ceci afin d'obtenir un champ de vue satisfaisant pour la zone étudiée. La température moyenne de la surface, en $^\circ\text{C}$, ainsi qu'une image photographique étaient relevées (Figure 56).

2.2.8 Mesure de la fonction barrière cutanée par mesure de la perte insensible en eau

La Perte Insensible en Eau (PIE) est un paramètre corrélé à l'intégrité de la barrière cutanée qui correspond à la quantité d'eau s'évaporant à travers la peau par unité de temps et de surface : $\text{g.m}^{-2}.\text{h}$. La PIE était mesurée à l'aide du Vapometer® (Delfin Technologies, Kuopio, Finlande). Cette sonde en chambre cylindrique fermée était appliquée sur la zone pendant 10 secondes afin de déterminer une valeur moyenne de la PIE. L'augmentation de la valeur de la PIE va dans le sens d'une altération de la barrière cutanée. Ainsi la restauration de la couche cornée par les DC sera évaluée par une diminution de la valeur de la PIE. La valeur de la PIE normale au niveau du bras est d'environ 4 à 5 $\text{g.m}^{-2}.\text{h}$. Après une altération de la couche cornée la PIE peut avoisiner les 30 à 40 $\text{g.m}^{-2}.\text{h}$. Lors de la phase de cicatrisation la PIE est proche de 15 à 20 $\text{g.m}^{-2}.\text{h}$ (75).

L'analyse de ce paramètre a porté sur 19 patients du fait de l'exclusion de deux d'entre eux dont les lésions extrêmement suintantes et excoriées ont faussement perturbé les valeurs de la PIE.

2.2.9 Evaluation du prurit

L'intensité du prurit a été quantifiée à l'aide d'une échelle visuelle analogique de 10 cm munie d'un curseur que le patient déplaçait en fonction de l'intensité moyenne du prurit dans l'intervalle de temps séparant deux visites.

2.2.10 Mesure de l'inflammation cutanée par microscopie confocale

L'inflammation cutanée a été évaluée de manière non invasive à l'aide d'un microscope confocal *in vivo* (Vivascope 1500® ; Lucid Inc, Rochester, NY, Etats-Unis). Ce système est composé d'un laser (830 nm) à basse puissance (20 mW) et permet de visualiser, en direct, le tissu cutané à l'échelle cellulaire jusqu'à une profondeur de 250 µm (résolution horizontale : 1 µm, résolution verticale : 3 µm). Le microscope confocal réalise, en quelque sorte, une biopsie virtuelle dans un plan de coupe transversal, perpendiculaire à celui de l'histologie conventionnelle. Originellement développé pour l'évaluation des lésions pigmentaires, le microscope confocal a vu ses applications se développer dans le domaine de l'inflammation cutanée (120–122,127,132).

Sur chaque site, trois à quatre Vivablocks de 5 x 5 mm (surface balayée à une profondeur donnée) à différentes profondeurs ainsi que trois Vivastacks de 0,5 x 0,5 mm (empilement d'images successives espacées de 3 µm) ont été réalisés. Des vidéos du réseau microcirculatoire ont été enregistrées afin d'évaluer le flux sanguin.

Les critères sensibles et spécifiques de l'eczéma de contact en microscopie confocale ont été décrits avec précision et correspondent à la spongiose, à la présence de vésicules et à la présence d'un infiltrat inflammatoire (120–122,127,133). La spongiose (SP), qui correspond à l'œdème, est visible au niveau des *stratum granulosum* et *spinosum*. Elle est caractérisée par des zones sombres (dû à l'exsudation) associée à une augmentation de la brillance intercellulaire et à un épaississement de l'espace inter-kératinocytaires ; les cellules paraissent « gonflées » comme une éponge (Figure 58). Lorsque l'œdème est important les images des couches superficielles sont floues et sombres. Les vésicules (VSCL) apparaissent comme des structures ovoïdes ou rondes à bords nets de contenu sombre (hyporéflectant) et homogène, des leucocytes y sont présents en quantité variable (Figure 58). Les leucocytes, constituant l'infiltrat inflammatoire (CI), sont soit intravésiculaires, ronds, de réflectance élevée d'un diamètre de 8 à 10 µm, soit intercellulaires lorsque les vésicules se sont rompues, et peuvent être alors ronds ou dendritiques (Figure 58). La détermination du type de leucocytes n'est pas possible en microscopie confocale. Enfin, la jonction dermique, reconnaissable sur peau saine par la présence de papilles dermiques (PD) rondes à ovales plus ou moins bordées d'un halo blanc de

mélanine, devient invisible à cause de l'œdème de l'inflammation. La visualisation des papilles dermiques représente ainsi un signe de régression de l'œdème.

La Table III présente la semi-quantification de ces critères. A partir de la cotation de ces critères, des données de la littérature sur leur pertinence dans l'évaluation de l'effet anti-inflammatoire et de l'avis de spécialistes de la technologie, un score d'inflammation a été proposé et calculé par la formule :

$$(SP + CI \text{ épiderme} + CI \text{ derme} - PD) * VSCL$$

L'analyse des paramètres obtenus en microscopie confocale a porté sur 20 patients du fait de l'exclusion d'un patient dont l'apparition des critères microscopiques de l'inflammation a eu lieu à J4 et non J3 comme pour les autres patients. Ce décalage dans le temps de la réaction inflammatoire biaise la valeur moyenne, c'est pourquoi nous l'avons écarté lors de l'analyse statistique.

2.2.11 Analyse statistique

L'analyse descriptive des variables qualitatives et ordinales comporte la fréquence de chaque modalité. Celle des variables quantitatives comporte la moyenne et l'écart type.

Pour tous les paramètres quantitatifs sauf les scores issus de l'analyse confocal, afin de tenir compte de l'état initial de la zone lésée qui correspond au maximum de l'inflammation avant tout traitement, nous avons défini « le pourcentage d'évolution du paramètre par rapport à J3 » comme suit :

$$[(\text{Paramètre}_{J3} - \text{Paramètre}_{Jx}) / \text{Paramètre}_{J3}] * 100$$

Avec Paramètre_{J3} = le paramètre mesuré à J3 et Paramètre_{Jx} = le même paramètre mesuré à J4, J5, J6, J7 ou J10.

Positif il exprime une régression du symptôme de l'inflammation, négatif il représente une dégradation du symptôme.

Afin de tester un effet crème, nous avons utilisé une analyse de variance à mesure répétées avec comme variables à expliquer les améliorations et comme variable explicative le type de crème. Les contrastes de Scheffé ont été utilisés pour mettre en évidence des différences entre les différents types de crème deux à deux.

Nous avons testé l'effet du type de crèmes sur les paramètres qualitatifs avec le test de Cochran-Mantel-Haenszel.

Pour le score issu de l'analyse confocale, nous avons analysé simplement la différence entre le score à J3 et les scores aux autres temps (impossibilité mathématique d'utiliser la méthode précédente).

Toutes les analyses ont été réalisées sous SAS 9.3 au seuil de significativité de 5%.

2.3 Résultats

Afin de s'affranchir d'un effet-site, c'est-à-dire de l'influence de la position des sites sur les avant-bras, pour chaque site, nous avons comparé les valeurs de la PIE, de la température, de L^* , a^* et b^* à J0 c'est-à-dire avant l'induction de l'inflammation. Pour chaque paramètre aucune différence significative n'a été retrouvée, ce qui signifie que tous les sites sains sont comparables indépendamment de leur localisation sur les avant-bras.

A J3, suivant le protocole, cinq des six sites présentaient une inflammation. La PIE, la température, L^* , a^* et b^* étaient significativement différents entre les sites enflammés et le site sain ($p < 0,0001$) démontrant ainsi que l'inflammation induite par la réaction allergique augmentait significativement ces paramètres. De plus, pour chacun de ces paramètres, aucune différence n'a été retrouvée entre les sites enflammés, ce qui signifie que les sites sont comparables. Cela permet donc de comparer les DC en s'affranchissant d'un quelconque effet site et de considérer l'inflammation uniforme sur tous les sites de tous les volontaires (respectivement $p=0,467$, $p=0,726$, $p=0,344$, $p=0,834$, $p=0,897$).

Pour certains paramètres (PIE, thermographie, L^* , a^* et b^*) nous disposons des valeurs de base des sites avant l'inflammation ce qui nous a permis de suivre l'évolution de l'inflammation sur chaque site.

2.3.1 Evaluation clinique

A J3, les sites enflammés étaient comparables et étaient caractérisés par un érythème associé à un œdème, des vésicules présentes sur 50 à 75% de la surface de la lésion et la présence, parfois inconstante, d'un prurit (score clinique moyen = 6) (Figure 19).

Tous traitements confondus, l'évolution de l'aspect clinique des lésions d'eczéma a augmenté de manière significative au cours du temps ($p < 0,0001$).

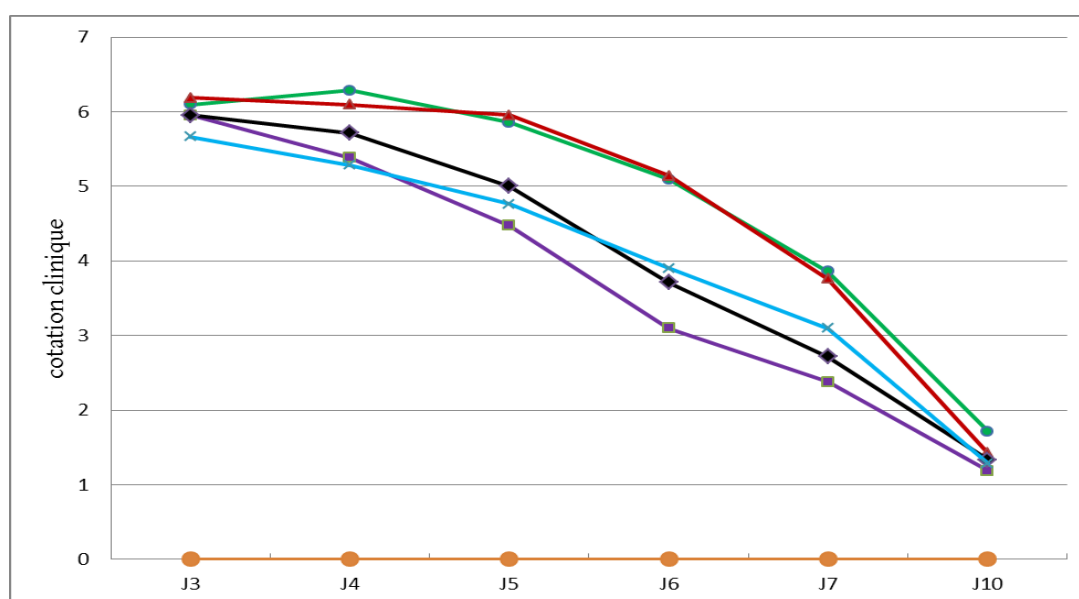
L'évolution de la cotation clinique des lésions était significativement différente en fonction des traitements ($p=0,0072$). Dermoal® était le DC qui a permis de réduire l'aspect clinique inflammatoire le plus rapidement et avec le plus d'amplitude. Betneval® et Locapred® ont fait régresser les lésions cliniques de manière identique (Figure 20). A partir de J5, Hydrocortisone® n'était pas plus efficace que le véhicule seul.

A J6, Dermoal® diminuait le stade clinique de l'inflammation de 2 stades par rapport au véhicule seul et à Hydrocortisone®.

En phase très précoce (J4), après 24h de traitement par véhicule seul, une dégradation de l'aspect clinique était visible (évolution à J4 = - 4,0%) (Figure 20).

A J10, les sites traités par les DC ont été améliorés de 77% en moyenne (Figure 20) ce qui correspond à une cotation finale moyenne de stade 1 (Figure 19) soit une lésion douteuse avec un érythème léger pouvant être associé à un œdème.

La cotation clinique moyenne durant les quatre premiers jours de traitement (J3 à J7) était semblable pour le véhicule seul (5,3) et Hydrocortisone® (5,2) d'une part et pour Locapred® et Betneval® (4,3) d'autre part. Le stade clinique moyen des sites traités par Dermoal® était de 3,8 (Figure 21).

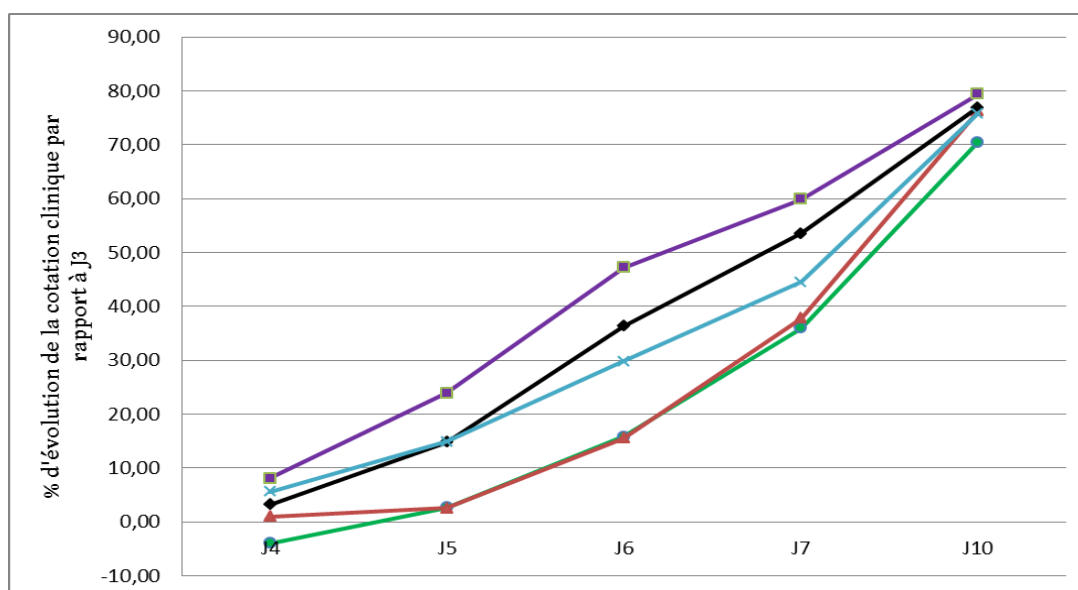


n=21	J3	J4	J5	J6	J7	J10
Site sain	0,0 (±0,0)	0,0 (±0,0)	0,0 (±0,0)	0,0 (±0,0)	0,0 (±0,0)	0,0 (±0,0)
Véhicule seul	6,1 (±0,8)	6,3 (±0,8)	5,9 (±1,0)	5,1 (±1,2)	3,9 (±1,7)	1,7 (±1,0)
Hydrocortisone®	6,2 (±0,8)	6,1 (±1,0)	6,0 (±1,1)	5,1 (±1,4)	3,8 (±1,7)	1,4 (±1,0)
Dermoal®	6,0 (±0,9)	5,4 (±1,2)	4,5 (±1,3)	3,1 (±1,2)	2,4 (±1,2)	1,2 (±0,7)
Betneval®	6,0 (±0,9)	5,7 (±1,0)	5,0 (±1,4)	3,7 (±1,6)	2,7 (±1,5)	1,3 (±1,0)
Locapred®	5,7 (±0,9)	5,3 (±0,9)	4,8 (±1,4)	3,9 (±1,6)	3,1 (±1,6)	1,3 (±0,6)

Figure 19 : Courbes représentant la cotation clinique moyenne au cours du temps pour chaque traitement.

Les moyennes (± écart-type) sont représentées dans le tableau.

Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoal®, Betneval®, Locapred®.



n=21	J4	J5	J6	J7	J10
Véhicule seul	-4 (±14)	3 (±19)	16 (±19)	36 (±29)	70 (±21)
Hydrocortisone®	1 (±14)	3 (±21)	16 (±26)	38 (±30)	76 (±17)
Dermoval®	8 (±22)	24 (±23)	47 (±24)	60 (±20)	79 (±12)
Betneval®	3 (±14)	15 (±24)	36 (±30)	54 (±27)	77 (±18)
Locapred®	6 (±16)	15 (±28)	30 (±34)	45 (±33)	76 (±15)

Figure 20 : Courbes représentant le pourcentage d'évolution moyen de la cotation clinique par rapport à J3. Les moyennes ($\pm$ écart-type) sont représentées dans le tableau.

Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.

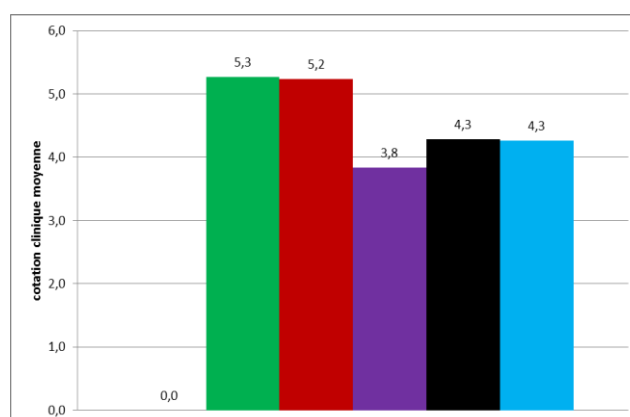


Figure 21 : Cotation clinique moyenne durant les quatre jours de traitements (J3 à J7).

Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.

2.3.2 Mesure du flux sanguin de la microcirculation cutanée par laser doppler

A J3, les sites enflammés avaient un flux sanguin augmentés d'un facteur de 5,4 soit une augmentation moyenne de +435% par rapport au site sain non enflammé (423,6 u.a en moyenne contre 79,2 u.a) (Figure 22).

Tous traitements confondus, l'évolution du flux sanguin a augmenté de manière significative au cours du temps ($p < 0,0001$). L'évolution est plus marquée dans les 48 h suivant la première application du traitement (J5) comme en témoigne les pentes abruptes des courbes.

La diminution du flux sanguin était significativement différente en fonction des traitements ($p = 0,0038$). Dermoval® et Betneval® avaient les effets les plus marqués et les plus rapides (dès 24 h de traitement), comparables en termes de puissance (évolution respectives = 60% et 58% à J5 ; 70% et 68% à J6) et en terme de rapidité comme en témoigne les pentes des courbes (Figure 23). De même Hydrocortisone® et Locapred® avaient des effets comparables à partir de 48h de traitement (J5). Cependant, en phase très précoce (24 h), l'Hydrocortisone® avait un effet moindre, comparable à celui du véhicule seul. A l'inverse le Locapred® avait un effet plus marqué à 24 h, comparable au Dermoval® et Betneval®, qui s'est estompé à partir de J5.

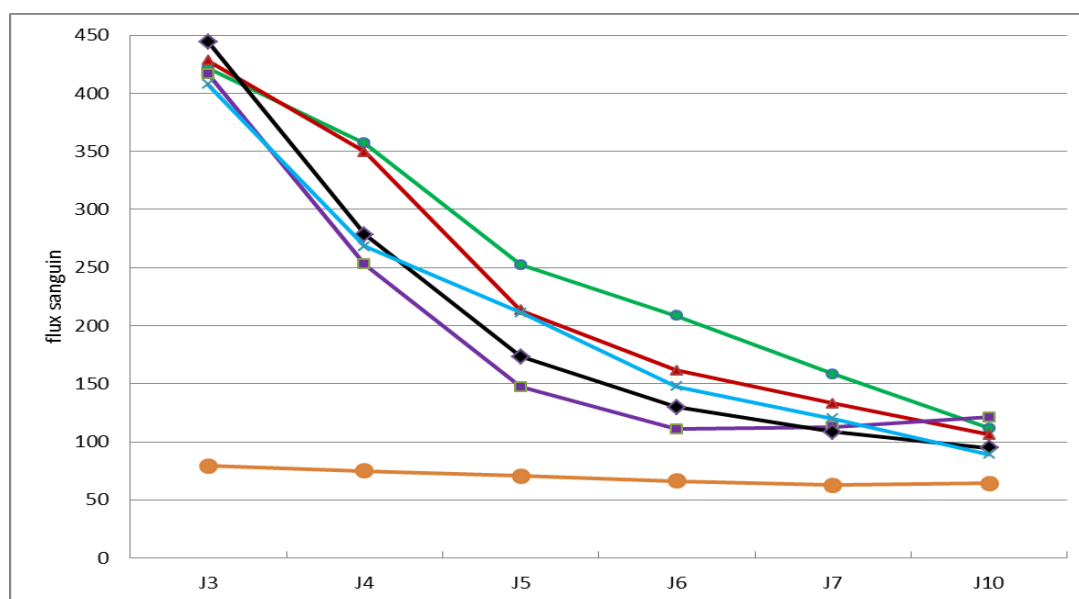
Le temps J5 était le plus discriminant. Dermoval® et Locapred® avaient en moyenne un flux sanguin amélioré de +14% par rapport à Locapred® et Hydrocortisone®, et de +26% par rapport au véhicule seul.

Pour toute la durée de l'étude, le groupe véhicule seul était le traitement pour lequel le flux sanguin était le moins diminué.

En phase tardive (J10), aucune différence d'effets entre les traitements n'a été retrouvée (Figure 23) et l'évolution moyenne par rapport à J3 était de 74%.

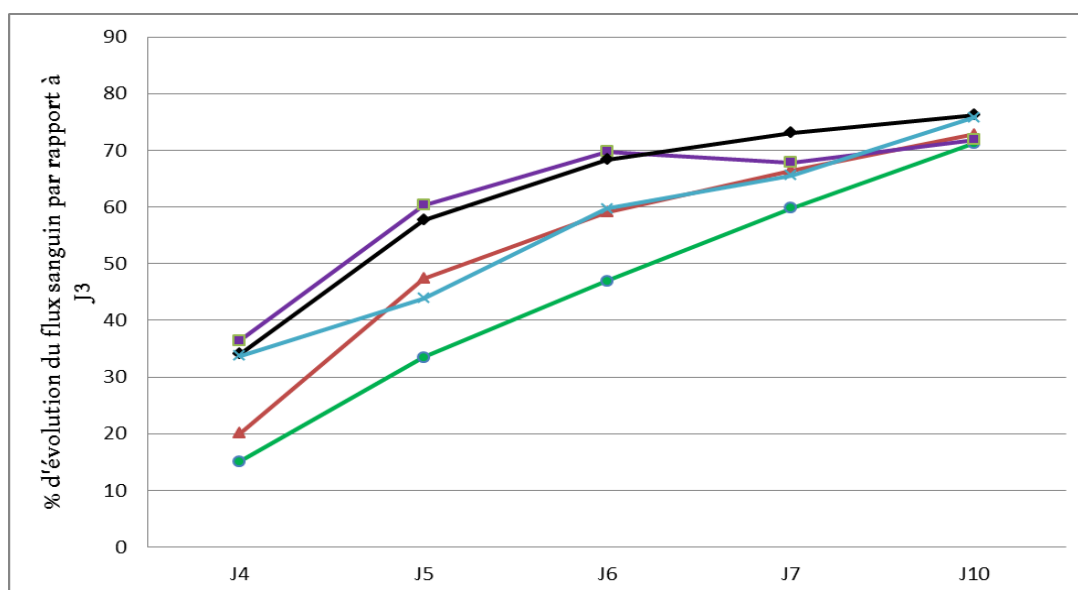
En outre, une augmentation du flux sanguin persiste par rapport au site sain, entre +39% pour le Locapred® et +88% pour le Dermoval® (Figure 24).

Le flux sanguin moyen durant les quatre premiers jours de traitement (J3 à J7) était maximum pour les sites traités par le véhicule seul (244,1 u.a) et minimum pour les sites traités par Dermoval® (155,9 u.a). Pour les autres DC, le flux sanguin moyen des sites traités par Hydrocortisone® semblait supérieur à celui des sites traités par Locapred® lui-même supérieur à celui des sites traités par Betneval® (Figure 25).



<i>n=20 à 21</i>	J3	J4	J5	J6	J7	J10
Site sain	79,2 (±23,4)	74,8 (±20,1)	70,7 (±15,1)	66,2 (±16,0)	62,5 (±10,4)	64,4 (±12,6)
Véhicule seul	421,4 (±174,7)	357,0 (±194,3)	252,4 (±104,8)	208,5 (±118,3)	158,5 (±96,7)	111,6 (±47,9)
Hydrocortisone®	428,1 (±167,6)	349,6 (±179,0)	213,2 (±85,4)	161,4 (±60,1)	132,8 (±65,0)	106,1 (±50,5)
Dermoal®	416,6 (±179,9)	252,9 (±157,0)	147,2 (±54,8)	110,9 (±34,9)	112,8 (±74,6)	121,1 (±126,4)
Betneval®	444,4 (±179,7)	278,4 (±129,6)	173,4 (±82,0)	129,8 (±43,7)	108,6 (±48,2)	94,6 (±42,6)
Locapred®	407,6 (±173,8)	268,0 (±132,4)	211,2 (±118,6)	147,6 (±93,2)	120,0 (±64,1)	89,4 (±32,1)

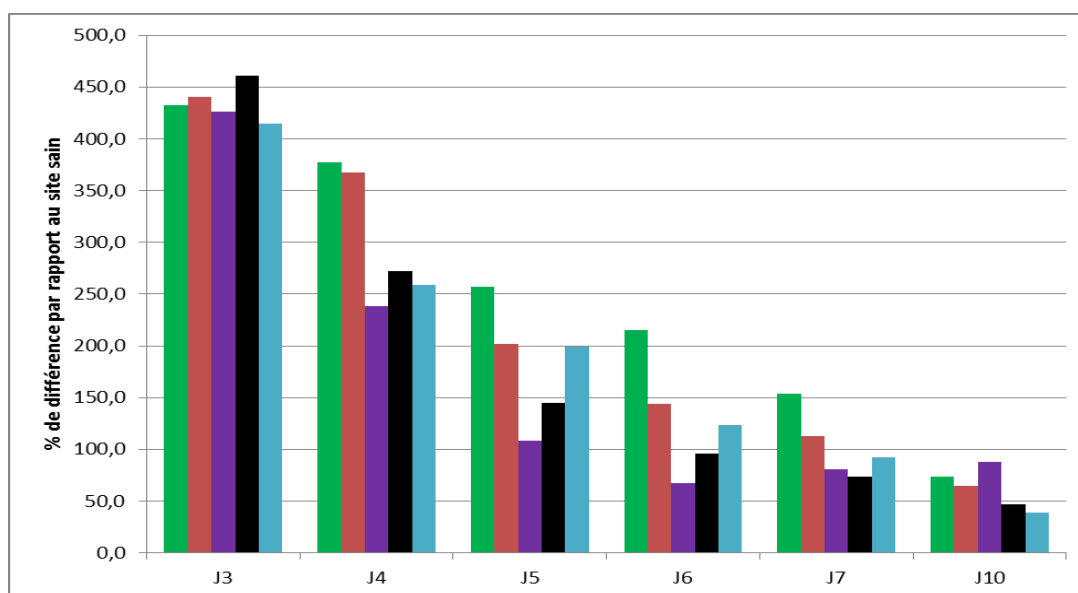
Figure 22 : Courbes représentant le flux sanguin moyen, déterminé par laser doppler, au cours du temps pour chaque traitement. Les moyennes en u.a (± écart-type) sont représentées dans le tableau. Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoal®, Betneval®, Locapred®.



<i>n=20 à 21</i>	J4	J5	J6	J7	J10
Véhicule seul	15 (±30)	33 (±31)	47 (±28)	60 (±22)	71 (±12)
Hydrocortisone®	20 (±23)	47 (±21)	59 (±18)	66 (±15)	73 (±14)
Dermoval®	36 (±29)	60 (±17)	70 (±14)	68 (±28)	72 (±16)
Betneval®	34 (±29)	58 (±18)	68 (±11)	73 (±11)	76 (±11)
Locapred®	34 (±19)	44 (±32)	60 (±27)	66 (±23)	76 (±9)

Figure 23 : Courbes représentant le pourcentage d'évolution moyen du flux sanguin par rapport à J3. Les moyennes (± écart-type) sont représentées dans le tableau.

Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.



n=20 à 21	J3	J4	J5	J6	J7	J10
Véhicule seul	+432	+378	+257	+215	+153	+73
Hydrocortisone®	+441	+368	+201	+144	+112	+65
Dermoval®	+426	+238	+108	+68	+80	+88
Betneval®	+461	+272	+145	+96	+74	+47
Locapred®	+415	+258	+199	+123	+92	+39

Figure 24 : Pourcentage de différence, par rapport au contrôle (site sain non enflammé), du flux sanguin pour chaque traitement. Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.

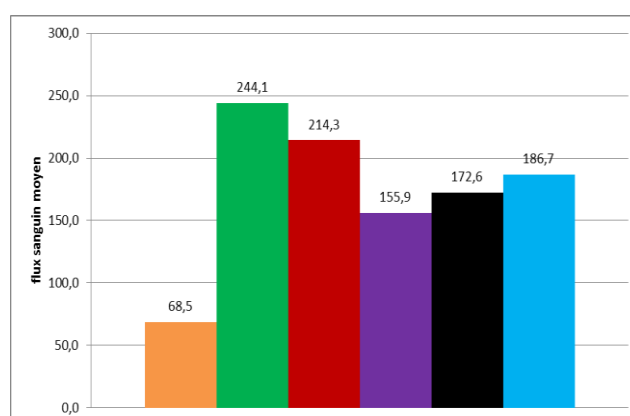


Figure 25: Flux sanguin moyen durant les quatre jours de traitements (J3 à J7). Site contrôle (site sain), Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.

2.3.3 Mesure de la couleur de la peau par colorimétrie

2.3.3.1 Paramètre L*

A J3, les sites enflammés étaient comparables et étaient plus sombres que le site sain non enflammé avec une valeur de L* réduite de 12% (57,31 u.a en moyenne contre 64,84 u.a) (Figure 26).

Tous traitements confondus, l'évolution de la valeur de L* a évolué de manière significative au cours du temps ($p < 0,0001$).

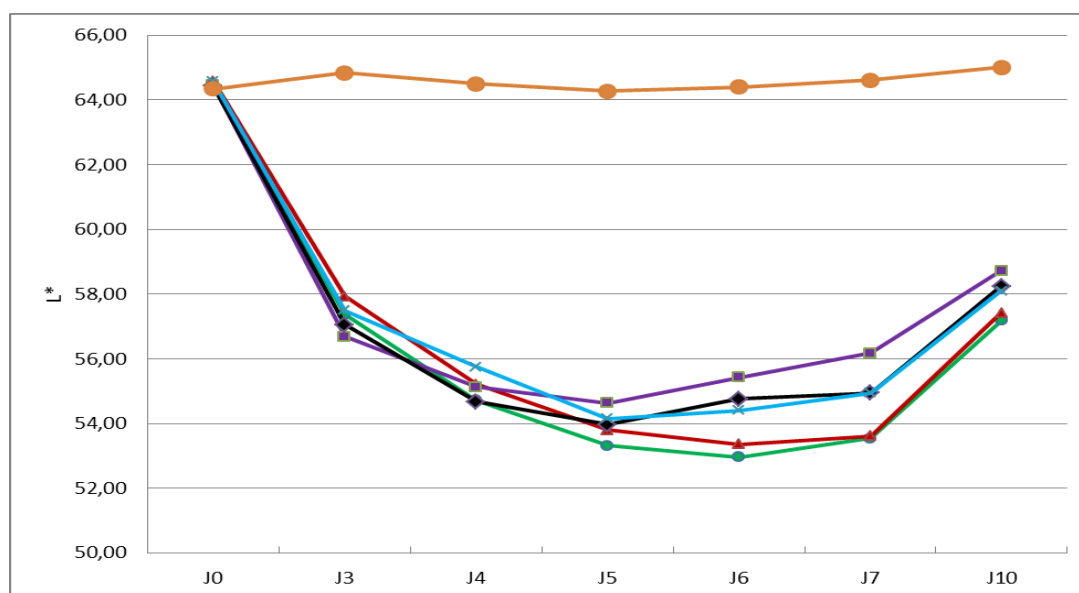
L'évolution du paramètre L* était significativement différente en fonction des traitements ($p = 0,0342$).

Pour tous les traitements, la valeur de L* a continué à diminuer en début de traitement. L'inversion des pentes des courbes, témoin de l'arrêt de la dégradation du paramètre L*, a eu lieu plus précocement (J5) pour Dermoval®, Betneval® et Locapred® que pour le véhicule seul et Hydrocortisone® (J6) (Figure 27).

Cependant, une amélioration de L* par rapport à J3, caractérisée par une valeur positive du pourcentage d'évolution, n'est visible qu'à partir de J10 pour Dermoval®, Betneval® et Locapred® (Figure 27). Pour le véhicule seul et Hydrocortisone®, à J10, l'évolution par rapport à J3 est nulle (évolutions respectives : 0%, -1%).

Sur toute la période de l'étude, l'évolution de L* du site traité par Dermoval® est supérieure à celle des autres sites traités. A J7, elle est supérieure de 7%, soit 2,64 unités ($L^* = 56,17$ u.a) par rapport à celle du site traité par Hydrocortisone® ($L^* = 53,53$ u.a). A l'inverse, sur toute la période de l'étude, la valeur de L* du site traité par Hydrocortisone® n'est pas plus améliorée qu'avec un traitement par le véhicule seul (Figure 27).

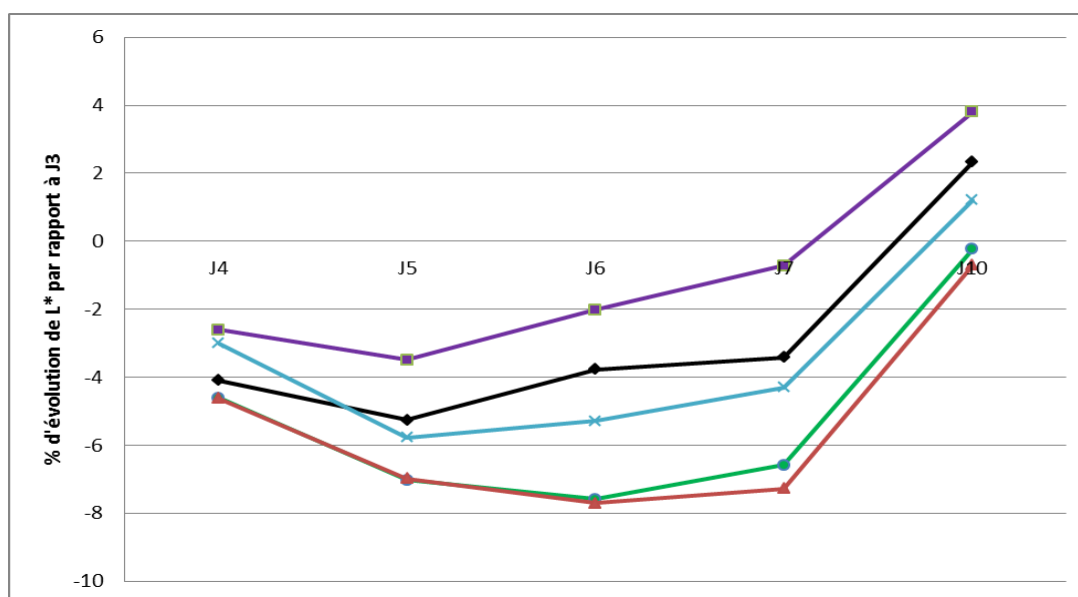
A J10, l'ensemble des sites traités avaient une valeur de L* moyenne ($L^*_{\text{moyen tous traitements}} = 57,93$ u.a) supérieure de 12%, soit 7,07 unités, par rapport au site sain ($L^*_{\text{site sain}} = 65,00$ u.a) (Figure 28).



<i>n</i> =20	J0	J3	J4	J5	J6	J7	J10
Site sain	64,34 (±2,16)	64,84 (±2,27)	64,49 (±2,09)	64,28 (±1,82)	64,40 (±2,21)	64,61 (±2,10)	65,00 (±2,23)
Véhicule seul	64,48 (±2,85)	57,37 (±2,59)	54,72 (±2,87)	53,31 (±3,16)	52,96 (±4,02)	53,53 (±4,24)	57,18 (±3,68)
Hydrocortisone®	64,58 (±2,35)	57,93 (±2,88)	55,21 (±2,42)	53,79 (±2,62)	53,36 (±2,95)	53,61 (±3,17)	57,42 (±3,08)
Dermoval®	64,45 (±2,46)	56,68 (±2,77)	55,13 (±2,77)	54,63 (±2,76)	55,42 (±2,99)	56,17 (±3,06)	58,72 (±2,54)
Betneval®	64,43 (±1,93)	57,06 (±3,13)	54,67 (±2,56)	53,96 (±2,32)	54,75 (±2,93)	54,95 (±2,79)	58,24 (±2,08)
Locapred®	64,56 (±2,61)	57,49 (±2,58)	55,75 (±2,67)	54,15 (±2,78)	54,40 (±2,96)	54,95 (±3,16)	58,09 (±2,07)

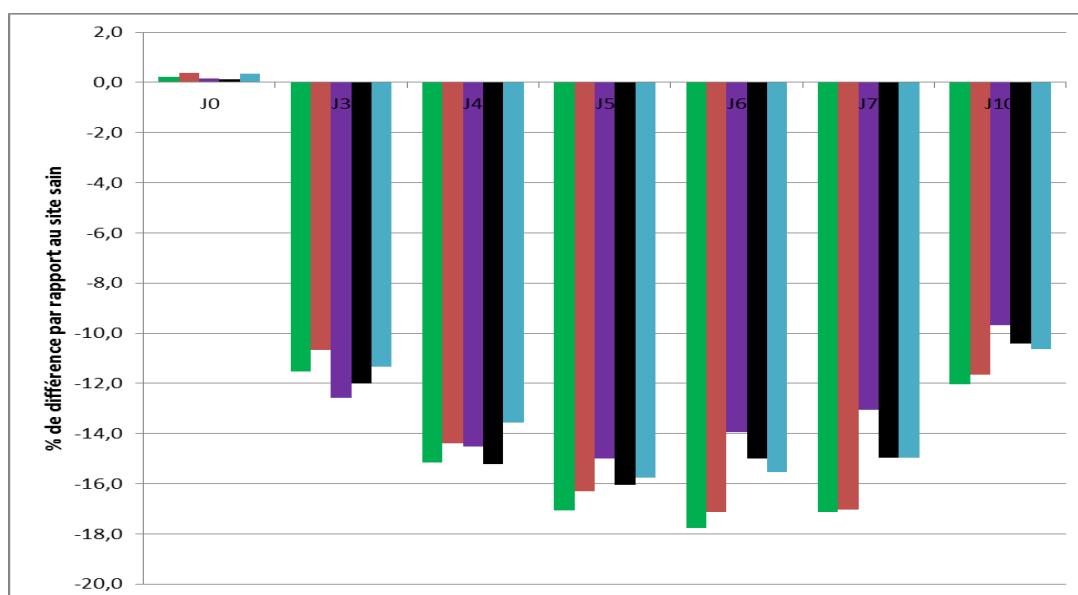
Figure 26 : Courbes représentant le paramètre colorimétrique L* moyen au cours du temps pour chaque traitement. Les moyennes en u.a (± écart-type) sont représentées dans le tableau.

Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.



<i>n</i> =20	J4	J5	J6	J7	J10
Véhicule seul	-5 (±3)	-7 (±5)	-8 (±7)	-7 (±7)	0 (±7)
Hydrocortisone®	-5 (±3)	-7 (±5)	-8 (±6)	-7 (±7)	-1 (±6)
Dermoval®	-3 (±3)	-3 (±5)	-2 (±7)	-1 (±7)	4 (±6)
Betneval®	-4 (±3)	-5 (±5)	-4 (±7)	-3 (±7)	2 (±6)
Locapred®	-3 (±3)	-6 (±4)	-5 (±5)	-4 (±6)	1 (±5)

Figure 27 : Courbes représentant le pourcentage d'évolution moyen du paramètre colorimétrique L* par rapport à J3. Les moyennes (± écart-type) sont représentées dans le tableau. Une évolution positive du paramètre L* est caractérisée par une augmentation de sa valeur, contrairement à tous les autres paramètres pour lesquels une guérison est caractérisée par une diminution des valeurs. C'est pourquoi, le % d'évolution pour le paramètre L* a été calculé avec une formule inverse c'est-à-dire $[(\text{Paramètre}_{Jx} - \text{Paramètre}_{J3}) / \text{Paramètre}_{J3}] * 100$. Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.



<i>n</i> =20	J0	J3	J4	J5	J6	J7	J10
Véhicule seul	0	-12	-15	-17	-18	-17	-12
Hydrocortisone®	0	-11	-14	-16	-17	-17	-12
Dermoval®	0	-13	-15	-15	-14	-13	-10
Betneval®	0	-12	-15	-16	-15	-15	-10
Locapred®	0	-11	-14	-16	-16	-15	-11

Figure 28 : Pourcentage de différence, par rapport au contrôle (site sain non enflammé), du paramètre colorimétrique L* pour chaque traitement. Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.

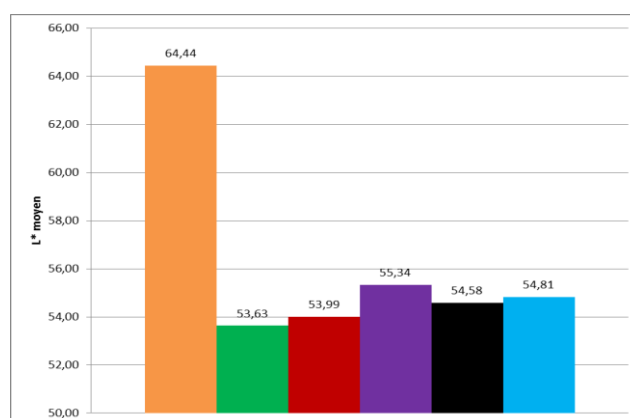


Figure 29 : Paramètre colorimétrique L* moyen durant les quatre jours de traitements (J3 à J7). Site contrôle (site sain), Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.

2.3.3.2 Paramètre a^*

A J3, les sites enflammés étaient comparables et étaient plus érythémateux que le site sain non enflammé avec une valeur de a^* doublée (18,17 u.a en moyenne contre 9,03 u.a) (Figure 30).

Tous traitements confondus, l'évolution de la valeur de a^* a augmenté de manière significative au cours du temps ($p < 0,0001$).

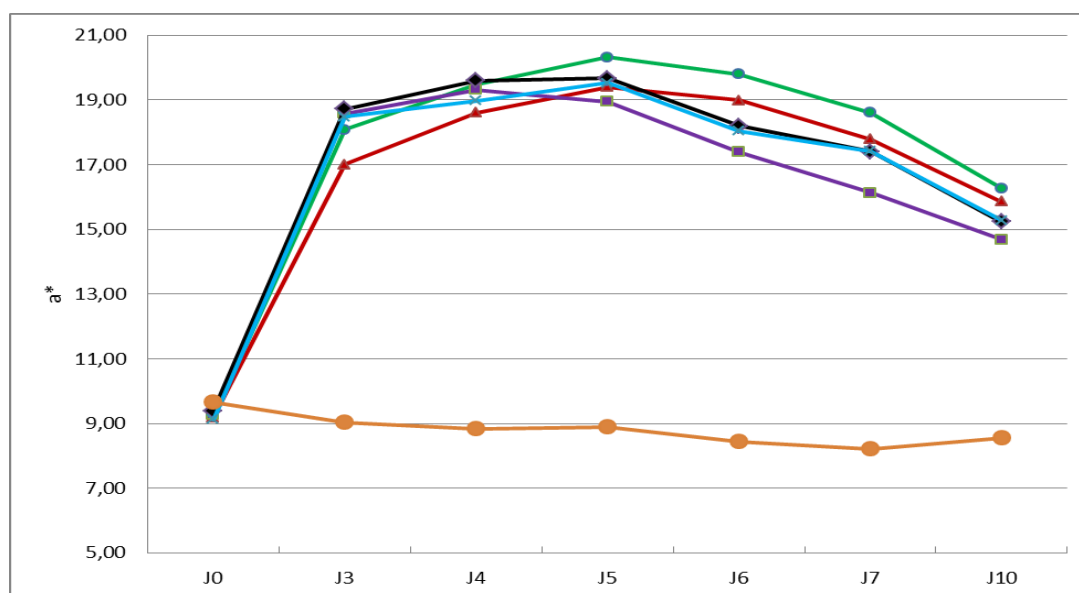
Cependant aucune différence significative n'a été retrouvée entre les traitements ($p = 0,1622$).

La Figure 31 montre une évolution négative de a^* , soit une intensification de l'érythème caractérisée par des pentes à la courbe négative qui s'inversent pour tous les traitements à partir de J5.

Une amélioration du paramètre a^* , mise en évidence par une valeur positive du pourcentage d'évolution, était observée à J6 pour Dermoval®, à J7 pour Locapred® et Betneval® et à J10 pour Hydrocortisone® et le véhicule seul.

A J6, l'évolution de a^* du site traité par Dermoval® est supérieure de 5% à celle de Locapred® et Betneval® et de 11% à celle du véhicule seul et d'Hydrocortisone®.

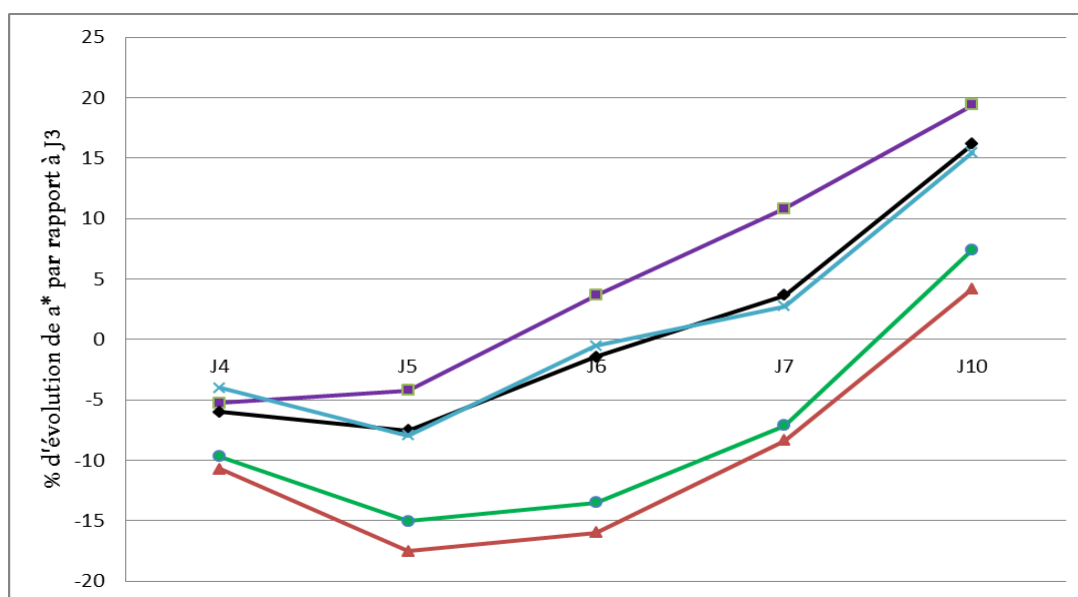
En phase tardive (J10), le site traité par Dermoval® avait une évolution de 20% par rapport à J3, les sites traités par Locapred® et Betneval® avaient une évolution de 15% et les sites traités par le véhicule seul et Hydrocortisone® avaient une évolution moyenne de 6%. Tous traitements confondus, la valeur de a^* moyenne est resté plus élevée de 81%, soit 6,9 unités, par rapport à celle du site sain non enflammé (Figure 32).



$n=21$	J0	J3	J4	J5	J6	J7	J10
Site sain	9,66 (±1,47)	9,03 (±1,35)	8,83 (±1,35)	8,90 (±1,39)	8,45 (±1,71)	8,22 (±1,36)	8,56 (±1,68)
Véhicule seul	9,22 (±1,61)	18,08 (±2,77)	19,46 (±2,58)	20,32 (±2,68)	19,79 (±3,53)	18,61 (±3,46)	16,27 (±3,71)
Hydrocortisone®	9,19 (±1,38)	17,00 (±2,97)	18,60 (±2,85)	19,39 (±2,71)	18,99 (±3,28)	17,78 (±3,37)	15,86 (±3,03)
Dermoval®	9,28 (±1,29)	18,57 (±3,01)	19,31 (±2,91)	18,94 (±2,93)	17,39 (±3,11)	16,13 (±2,55)	14,68 (±2,93)
Betneval®	9,38 (±1,4)	18,72 (±3,29)	19,60 (±3,04)	19,67 (±3,02)	18,19 (±3,64)	17,40 (±4,26)	15,24 (±2,64)
Locapred®	9,12 (±1,19)	18,47 (±3,06)	18,97 (±2,69)	19,52 (±2,32)	18,04 (±2,90)	17,42 (±3,15)	15,28 (±2,38)

Figure 30 : Courbes représentant le paramètre colorimétrique a^* moyen au cours du temps pour chaque traitement. Les moyennes en u.a (± écart-type) sont représentées dans le tableau.

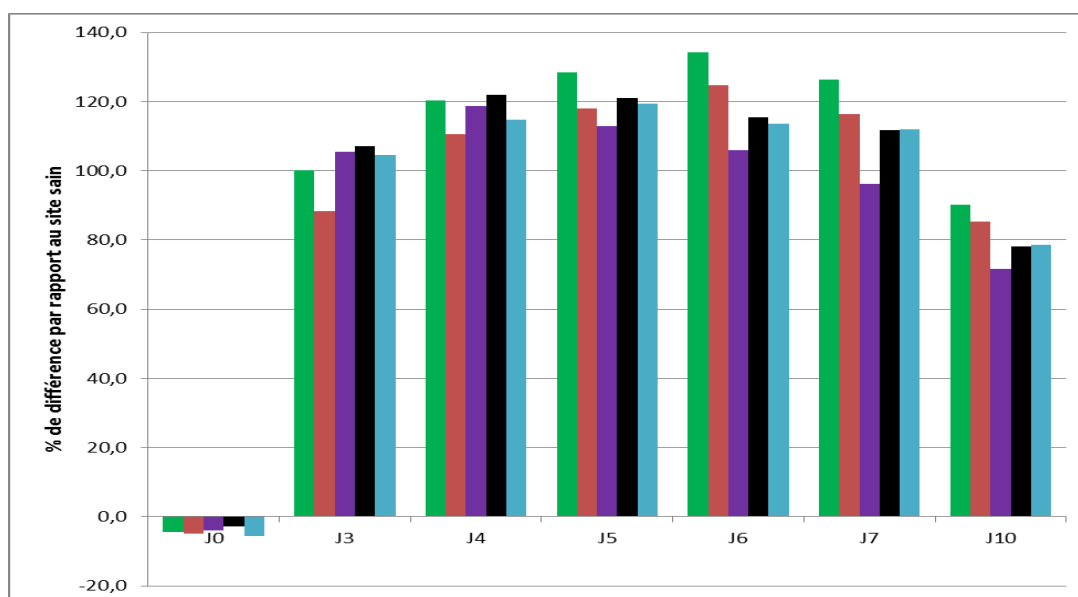
Site contrôle (site sain), Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.



n=21	J4	J5	J6	J7	J10
Véhicule seul	-10 (±19)	-15 (±24)	-14 (±35)	-7 (±36)	7 (±28)
Hydrocortisone®	-11 (±15)	-18 (±27)	-16 (±33)	-8 (±31)	4 (±24)
Dermoval®	-5 (±17)	-4 (±22)	4 (±25)	11 (±21)	19 (±19)
Betneval®	-6 (±13)	-8 (±21)	-1 (±34)	4 (±31)	16 (±21)
Locapred®	-4 (±14)	-8 (±20)	-1 (±25)	3 (±26)	15 (±17)

Figure 31 : Courbes représentant le pourcentage d'évolution moyen du paramètre colorimétrique a* par rapport à J3. Les moyennes (± écart-type) sont représentées dans le tableau.

Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.



n=21	J0	J3	J4	J5	J6	J7	J10
Véhicule seul	-4	+100	+120	+128	+134	+126	+90
Hydrocortisone®	-5	+88	+111	+118	+125	+116	+85
Dermoval®	-4	+106	+119	+113	+106	+96	+72
Betneval®	-3	+107	+122	+121	+115	+112	+78
Locapred®	-6	+104	+115	+119	+114	+112	+79

Figure 32 : Pourcentage de différence, par rapport au contrôle (site sain non enflammé), du paramètre colorimétrique a* pour chaque traitement. Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.

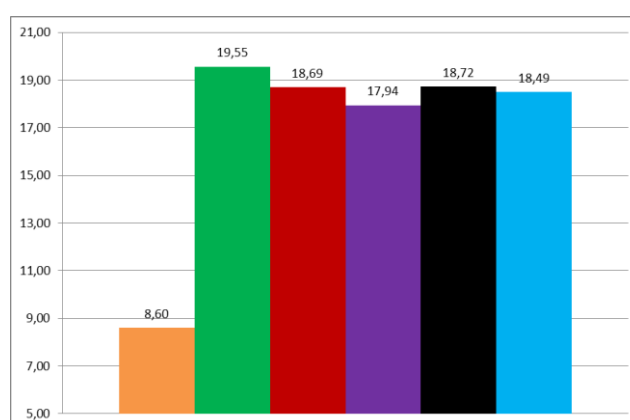


Figure 33 : Paramètre colorimétrique a* moyen durant les quatre jours de traitements (J3 à J7). Site contrôle (site sain), Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.

2.3.3.3 Paramètre b*

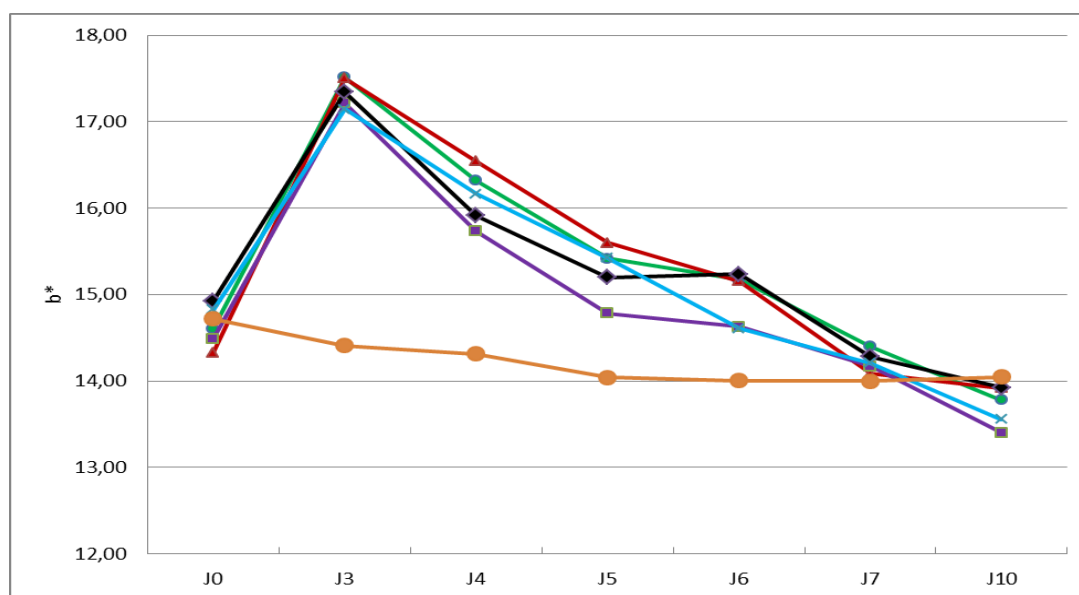
A J3, les sites enflammés étaient comparables et la valeur de b* était augmentée en moyenne de 20% par rapport au site sain non enflammé (soit b* moyen sites enflammés =17,34 u.a contre b* site sain =14,4 u.a) (Figure 34).

Tous traitements confondus, l'évolution de la valeur de b* était linéaire et a augmenté de manière significative au cours du temps ($p < 0,0001$) (Figure 35).

Cependant aucune différence significative n'a été retrouvée entre les traitements ($p = 0,9156$).

A J10, tous traitements confondus, l'évolution moyenne de la valeur de b* était de 21% par rapport à J3.

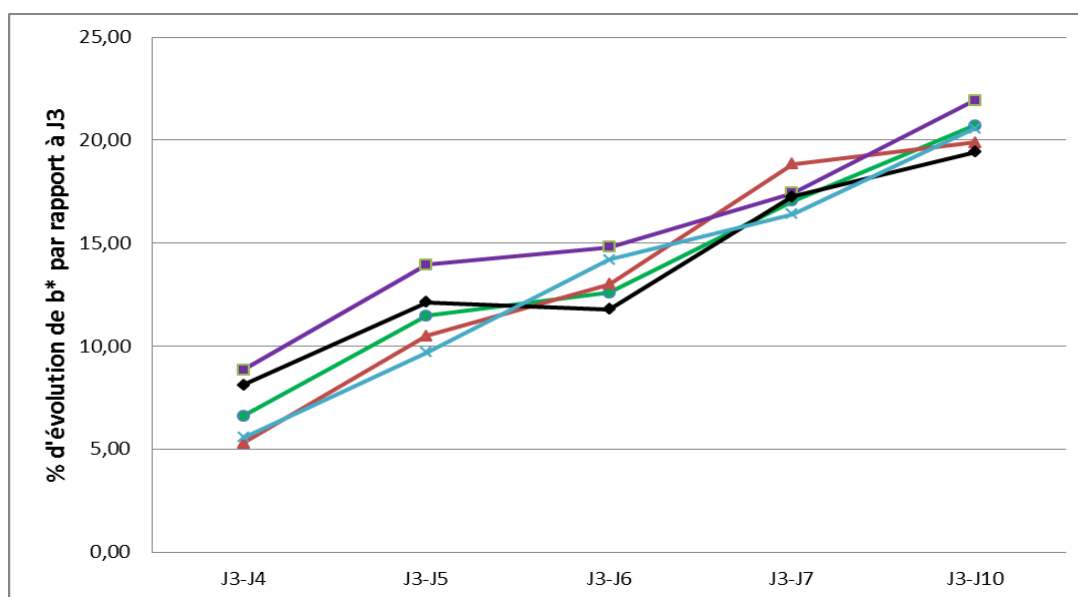
A partir de J7, les valeurs de b* des sites traités étaient comparables à celle du site sain ($b^* < 5\%$ de différence par rapport au site sain) (Figure 36).



<i>n</i> =20	J0	J3	J4	J5	J6	J7	J10
Site sain	14,72 (±1,56)	14,41 (±1,72)	14,31 (±1,75)	14,04 (±1,89)	14,01 (±1,76)	14,00 (±1,77)	14,05 (±1,81)
Véhicule seul	14,61 (±1,62)	17,51 (±1,83)	16,32 (±1,69)	15,42 (±1,51)	15,17 (±1,08)	14,40 (±1,32)	13,78 (±1,46)
Hydrocortisone®	14,33 (±1,66)	17,50 (±1,66)	16,54 (±1,86)	15,60 (±1,53)	15,16 (±1,54)	14,08 (±1,57)	13,92 (±1,44)
Dermoval®	14,49 (±1,52)	17,21 (±1,05)	15,73 (±1,48)	14,78 (±1,33)	14,63 (±0,84)	14,17 (±1,10)	13,40 (±1,51)
Betneval®	14,93 (±1,86)	17,34 (±1,37)	15,91 (±1,81)	15,20 (±1,66)	15,24 (±1,49)	14,28 (±1,91)	13,92 (±1,66)
Locapred®	14,82 (±1,80)	17,14 (±1,45)	16,16 (±1,59)	15,42 (±1,33)	14,61 (±1,47)	14,21 (±1,32)	13,55 (±1,57)

Figure 34 : Courbes représentant le paramètre colorimétrique b* moyen au cours du temps pour chaque traitement. Les moyennes en u.a (± écart-type) sont représentées dans le tableau.

Site contrôle (site sain), Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.



<i>n=20</i>	J4	J5	J6	J7	J10
Véhicule seul	7 (±6)	11 (±9)	13 (±10)	17 (±10)	21 (±11)
Hydrocortisone®	5 (±8)	11 (±8)	13 (±9)	19 (±12)	20 (±11)
Dermoval®	9 (±7)	14 (±8)	15 (±6)	17 (±8)	22 (±9)
Betneval®	8 (±9)	12 (±9)	12 (±10)	17 (±12)	19 (±10)
Locapred®	6 (±7)	10 (±8)	14 (±12)	16 (±12)	21 (±10)

Figure 35 : Courbes représentant le pourcentage d'évolution moyen du paramètre colorimétrique b* par rapport à J3. Les moyennes (± écart-type) sont représentées dans le tableau.

Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.

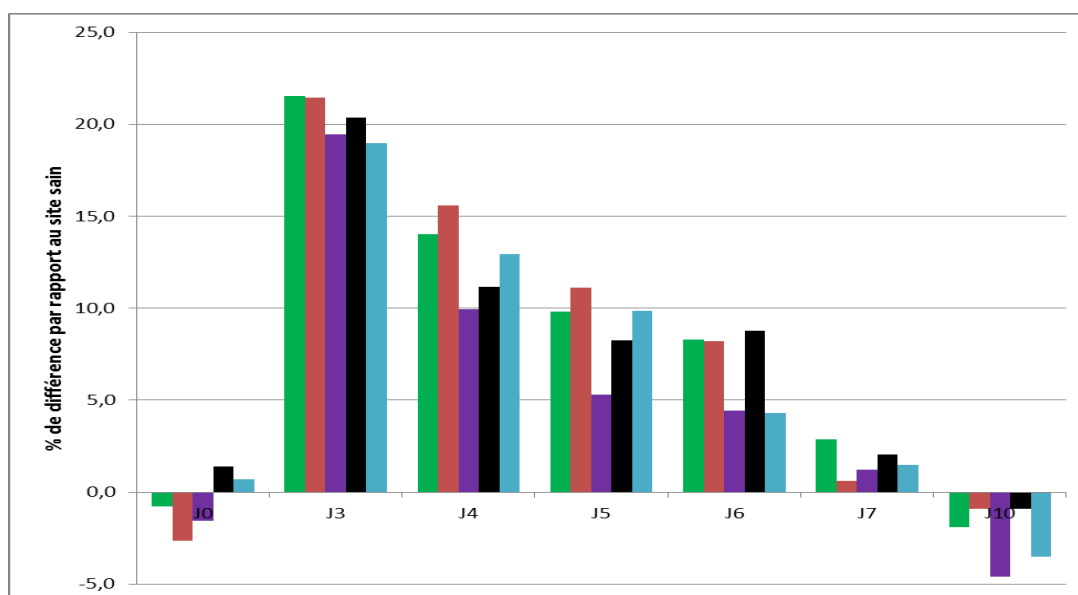


Figure 36 : Pourcentage de différence, par rapport au contrôle (site sain non enflammé), du paramètre colorimétrique b* pour chaque traitement.

Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.

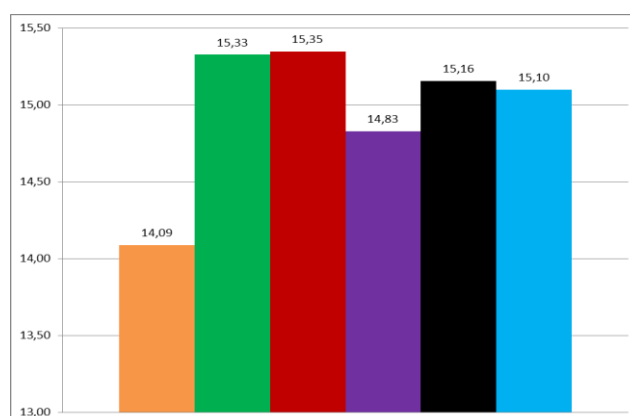


Figure 37 : Paramètre colorimétrique b* moyen durant les quatre jours de traitements (J3 à J7).

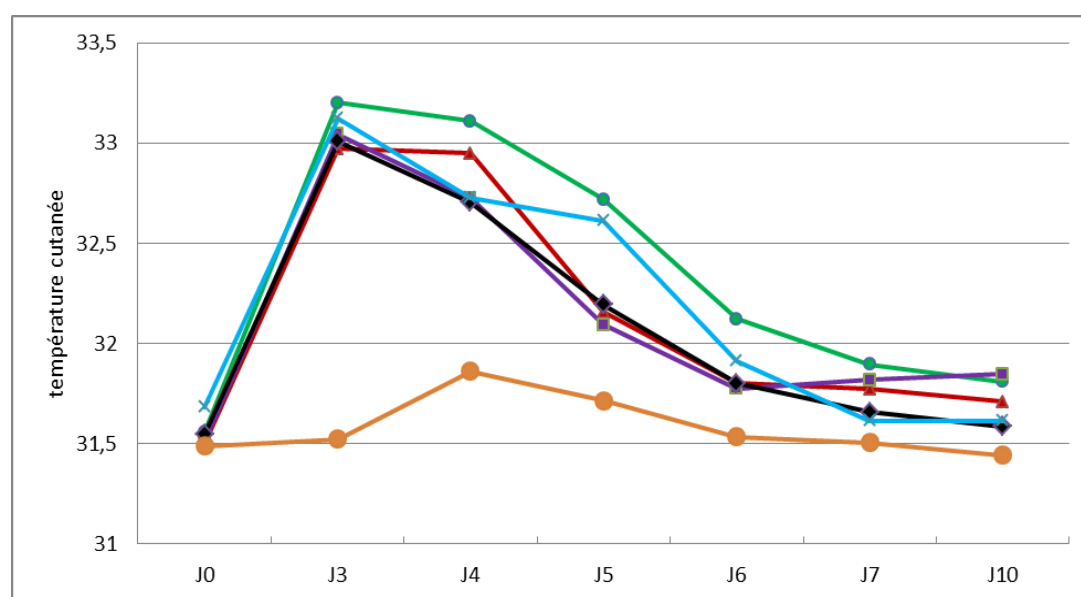
Site contrôle (site sain), Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.

2.3.4 Mesure de la température cutanée par thermographie

A J3, les sites enflammés avaient une température cutanée augmentée de 5% par rapport au site sain non enflammé (33,1°C en moyenne contre 31,5°C) (Figure 38).

La température de tous les sites enflammés et traités a diminué significativement au cours du temps ($p < 0,0001$). Cependant, aucune différence n'a été retrouvée entre les traitements (Figure 39).

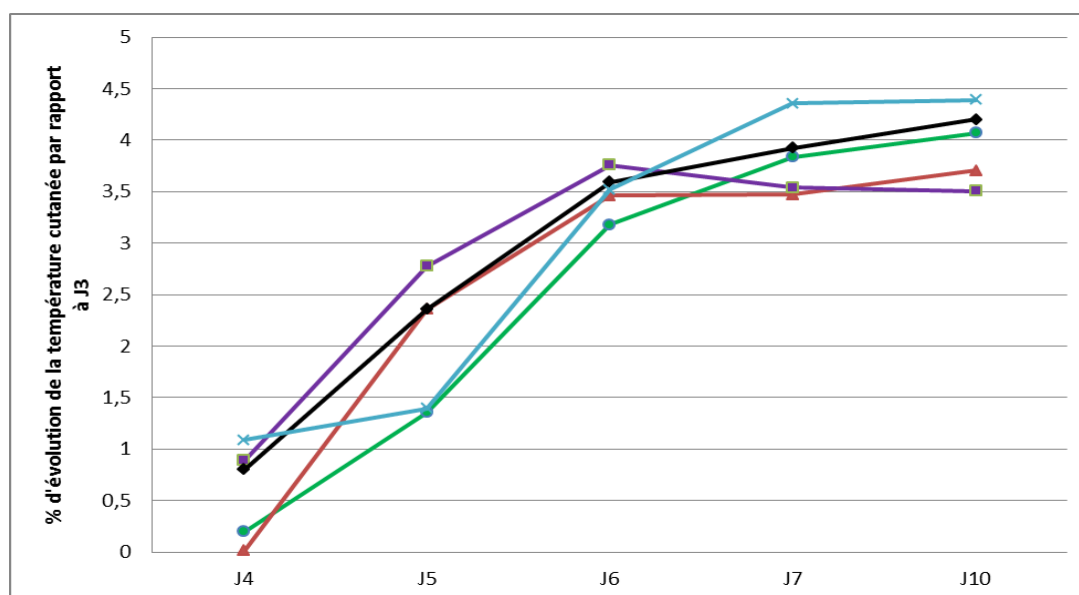
A partir de J6, les sites traités avaient une température cutanée égale à celle du site sain (+1% en moyenne) (Figure 40).



n=21	J0	J3	J4	J5	J6	J7	J10
Site sain	31,5 (±0,8)	31,5 (±1,0)	31,9 (±1,0)	31,7 (±1,1)	31,5 (±1,0)	31,5 (±0,7)	31,4 (±1,0)
Véhicule seul	31,6 (±0,7)	33,2 (±1,2)	33,1 (±1,1)	32,7 (±1,1)	32,1 (±1,0)	31,9 (±0,7)	31,8 (±1,0)
Hydrocortisone®	31,5 (±0,6)	33,0 (±1,3)	32,9 (±1,3)	32,2 (±1,2)	31,8 (±0,9)	31,8 (±0,9)	31,7 (±0,8)
Dermoval®	31,5 (±0,7)	33,0 (±1,3)	32,7 (±1,4)	32,1 (±1,3)	31,8 (±1,0)	31,8 (±0,9)	31,8 (±1,2)
Betneval®	31,5 (±1,0)	33,0 (±1,4)	32,7 (±1,2)	32,2 (±1,3)	31,8 (±1,3)	31,7 (±1,0)	31,6 (±1,2)
Locapred®	31,7 (±0,7)	33,1 (±1,5)	32,7 (±1,3)	32,6 (±1,3)	31,9 (±1,1)	31,6 (±0,8)	31,6 (±0,9)

Figure 38 : Courbes représentant la température cutanée moyenne au cours du temps pour chaque traitement. Les moyennes en °C (± écart-type) sont représentées dans le tableau.

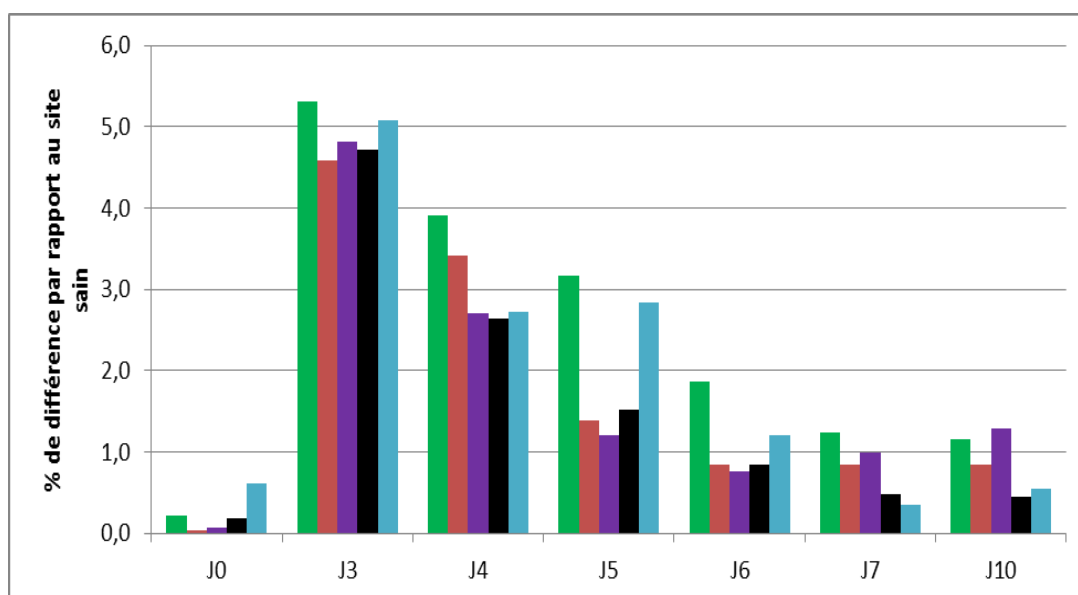
Site contrôle (site sain), Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.



<i>n=21</i>	J4	J5	J6	J7	J10
Véhicule seul	0 (±4)	1 (±4)	3 (±3)	4 (±3)	4 (±5)
Hydrocortisone®	0 (±4)	2 (±5)	3 (±4)	3 (±5)	4 (±4)
Dermoval®	1 (±4)	3 (±4)	4 (±3)	4 (±5)	4 (±5)
Betneval®	1 (±5)	2 (±5)	4 (±4)	4 (±5)	4 (±4)
Locapred®	1 (±4)	1 (±5)	4 (±4)	4 (±5)	4 (±5)

Figure 39 : Courbes représentant le pourcentage d'évolution moyen de la température cutanée par rapport à J3. Les moyennes ($\pm$ écart-type) sont représentées dans le tableau.

Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.



<i>n=21</i>	J0	J3	J4	J5	J6	J7	J10
Véhicule seul	0	+5	+4	+3	+2	+1	+1
Hydrocortisone®	0	+5	+3	+1	+1	+1	+1
Dermoval®	0	+5	+3	+1	+1	+1	+1
Betneval®	0	+5	+3	+2	+1	0	0
Locapred®	+1	+5	+3	+3	+1	0	+1

Figure 40 : Pourcentage de différence, par rapport au contrôle (site sain non enflammé), de la température cutanée pour chaque traitement.

Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.

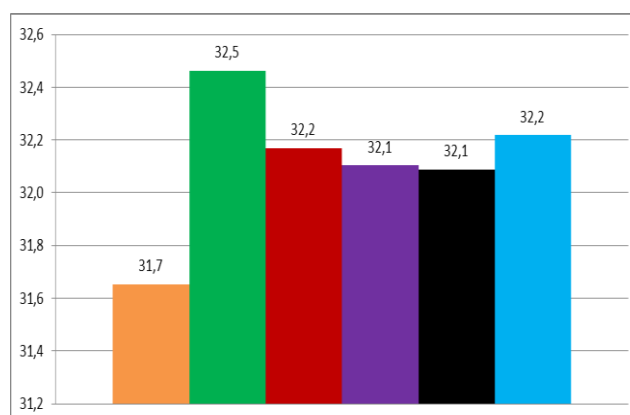


Figure 41 : Température cutanée moyenne durant les quatre jours de traitements (J3 à J7).

Site contrôle (site sain), Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.

2.3.5 Mesure de la fonction barrière cutanée par mesure de la perte insensible en eau

A J3, les sites enflammés avaient une valeur de PIE augmentée par rapport site sain non enflammé (+203% en moyenne pour Hydrocortisone®, Dermoval® et Locapred®, +156% pour le véhicule seul et + 293% pour le Betneval®) (Figure 44). A J3, avant tout traitement, la valeur basale de la PIE des sites traités par Betneval® était augmentée par rapport aux autres sites enflammés du fait d'une valeur élevée pour un des patients ($ET=39,5 \text{ g.m}^{-2}.\text{h}$) (Figure 42). La valeur de la PIE de tous les sites enflammés et traités a diminué significativement au cours du temps ($p<0,0001$). Cependant, aucune différence n'a été retrouvée entre les traitements.

Une dégradation de la PIE par rapport à J3, mise en évidence par une valeur négative du pourcentage d'évolution, était observée à J4 pour Hydrocortisone® et le véhicule seul (Figure 43). Aucune évolution n'a été observée avec Hydrocortisone® entre J5 et J7. Après 24h de traitement (J4), la PIE du site traité par Hydrocortisone® est celui qui s'est le plus dégradé -38% par rapport au site à J3.

Pour les traitements ayant montré une amélioration en début de traitement (Dermoval®, Locapred®, Betneval®), une inversion de la pente des courbes, témoin d'une altération de la PIE, était observée à J6. L'amélioration de la PIE diminuait de 41% à 25% pour Dermoval®, de 38% à 29% pour Locapred® et de 38% à 23% pour le Betneval®. Cette inversion est observée plus tardivement avec le véhicule seul (J7) (diminution de 28% à 3%) et n'était pas observée avec Hydrocortisone® (Figure 43).

A J10, la PIE du site traité par véhicule seul avait retrouvé sa valeur à J3 (évolution = 3%).

En fin d'étude, la PIE des sites traités par véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval® et Betneval® restait en moyenne supérieure de 76% par rapport au site sain, elle l'était de 49% pour le Locapred® (Figure 44).

La valeur moyenne de la PIE durant les quatre premiers jours de traitement (J3 à J7) était maximum pour les sites traités par Hydrocortisone® ($17,3 \text{ g.m}^{-2}.\text{h}$) et minimum pour les sites traités par Dermoval® ($11,6 \text{ g.m}^{-2}.\text{h}$) (Figure 45).

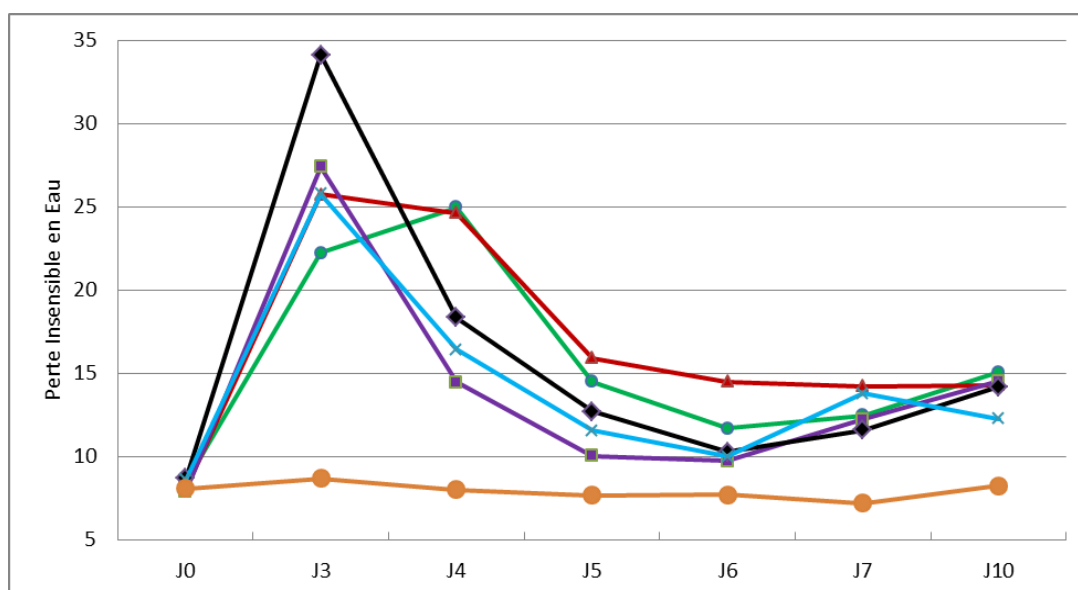
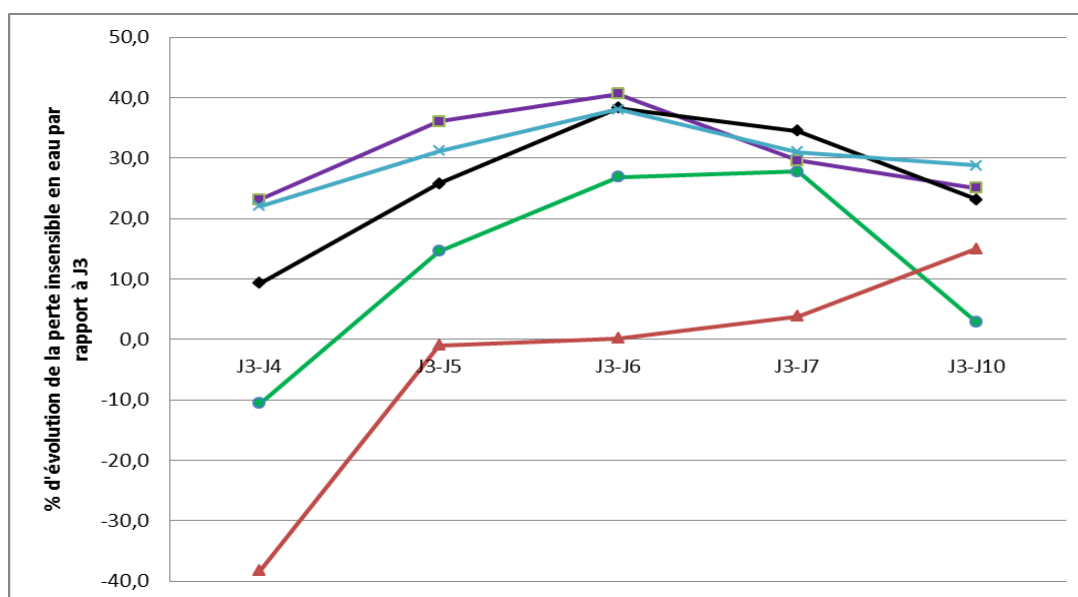


Figure 42 : Courbes représentant la perte insensible en eau moyenne au cours du temps pour chaque traitement. Les moyennes en g.m⁻².h (± écart-type) sont représentées dans le tableau.

Site contrôle (site sain), Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.



<i>n</i> =19	J4	J5	J6	J7	J10
Véhicule seul	-11 (±94)	15 (±41)	27 (±36)	28 (±34)	3 (±84)
Hydrocortisone®	-38 (±188)	-1 (±98)	0 (±127)	4 (±98)	15 (±62)
Dermoval®	23 (±32)	36 (±36)	41 (±32)	30 (±38)	25 (±43)
Betneval®	9 (±77)	26 (±60)	38 (±49)	35 (±47)	23 (±57)
Locapred®	22 (±28)	31 (±32)	38 (±33)	31 (±31)	29 (±36)

Figure 43 : Courbes représentant le pourcentage d'évolution moyen de la perte insensible en eau par rapport à J3. Les moyennes ($\pm$ écart-type) sont représentées dans le tableau.

Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.

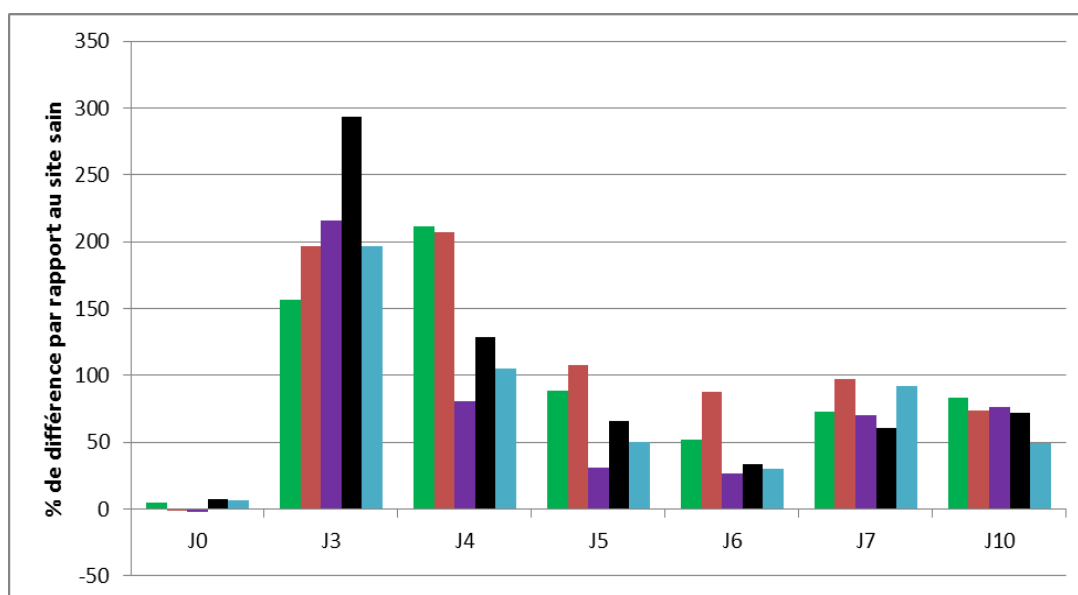


Figure 44 : Pourcentage de différence, par rapport au contrôle (site sain non enflammé), de la perte insensible en eau pour chaque traitement. Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoal®, Betneval®, Locapred®.

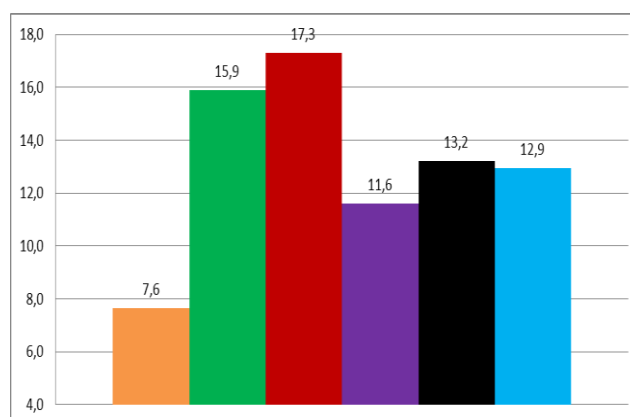


Figure 45 : Perte insensible en eau moyenne durant les quatre jours de traitements (J3 à J7). Site contrôle (site sain), Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoal®, Betneval®, Locapred®.

2.3.6 Evaluation du prurit

A J3, les sites enflammés ont induit un prurit moyen de 4,5 sur une échelle de 10 (Figure 46).

Le prurit a régressé de manière significative au cours du temps pour tous les traitements ($p < 0,0001$). Cependant aucune différence significative n'a été retrouvée entre les traitements ($p = 0,6405$).

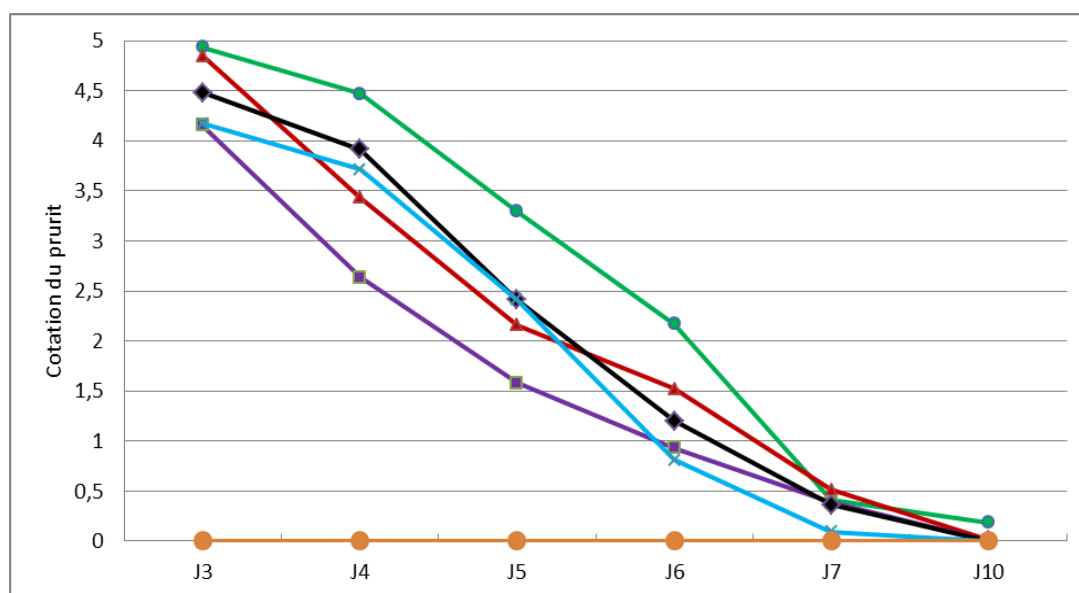
En phase très précoce, le prurit a été amélioré de 38% pour Dermoval® et Hydrocortisone® contre 24% en moyenne pour les autres traitements (Figure 47).

A J5 et J6, tous les DC ont amélioré le prurit de 10% à 20% en moyenne par rapport au véhicule seul.

A J7 Locapred® est le premier traitement à avoir démontré une régression complète du prurit.

A J10 le prurit a régressé totalement pour tous les traitements.

La valeur moyenne du prurit durant les quatre premiers jours de traitement (J3 à J7) était maximum pour les sites traités par le véhicule seul, semblables pour les sites traités par Hydrocortisone®, Locapred® et Betneval® et minimum pour les sites traités par Dermoval® (Figure 48).



<i>n=16 à 19</i>	J3	J4	J5	J6	J7	J10
Site sain	0,0 (±0,0)	0,0 (±0,0)	0,0 (±0,0)	0,0 (±0,0)	0,0 (±0,0)	0,0 (±0,0)
Véhicule seul	4,9 (±3,0)	4,5 (±3,4)	3,3 (±2,7)	2,2 (±2,0)	0,4 (±0,6)	0,2 (±0,5)
Hydrocortisone®	4,8 (±2,4)	3,4 (±2,5)	2,2 (±2,4)	1,5 (±1,9)	0,5 (±1,0)	0,0 (±0,1)
Dermoval®	4,2 (±2,6)	2,6 (±2,2)	1,6 (±2,1)	0,9 (±1,8)	0,4 (±1,0)	0,0 (±0,0)
Betneval®	4,5 (±3,4)	3,9(±2,7)	2,4 (±2,8)	1,2 (±1,8)	0,4 (±1,0)	0,0 (±0,0)
Locapred®	4,2 (±2,8)	3,7 (±2,2)	2,4 (±2,5)	0,8 (±1,4)	0,1 (±0,2)	0,0 (±0,0)

Figure 46 : Courbes représentant la cotation du prurit moyen au cours du temps pour chaque traitement.

Les moyennes (± écart-type) sont représentées dans le tableau.

Site contrôle (site sain), Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.

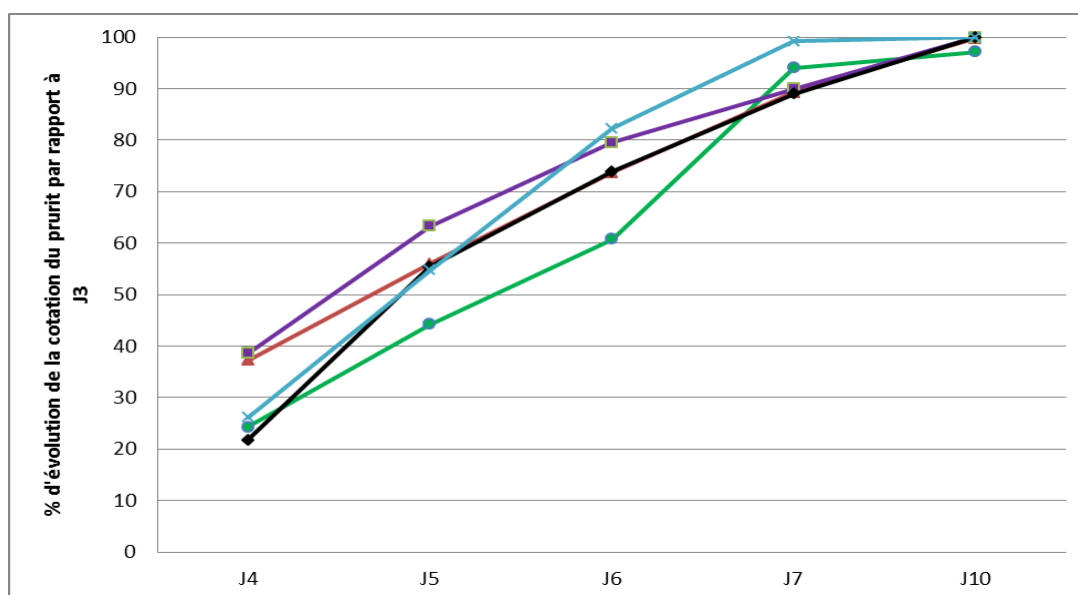


Figure 47 : Courbes représentant le pourcentage d'évolution moyen de la cotation du prurit par rapport à J3. Les moyennes ($\pm$ écart-type) sont représentées dans le tableau.

Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.

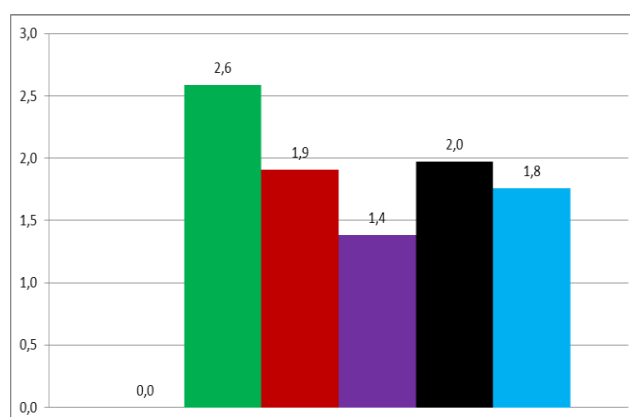


Figure 48 : Cotation du prurit moyenne durant les quatre jours de traitements (J3 à J7).

Site contrôle (site sain), Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.

2.3.7 Mesure de l'inflammation cutanée par microscopie confocale

Tous traitements confondus, les signes d'inflammation en microscopie confocale ont tous régressé de manière significative au cours du temps ($p < 0,0001$).

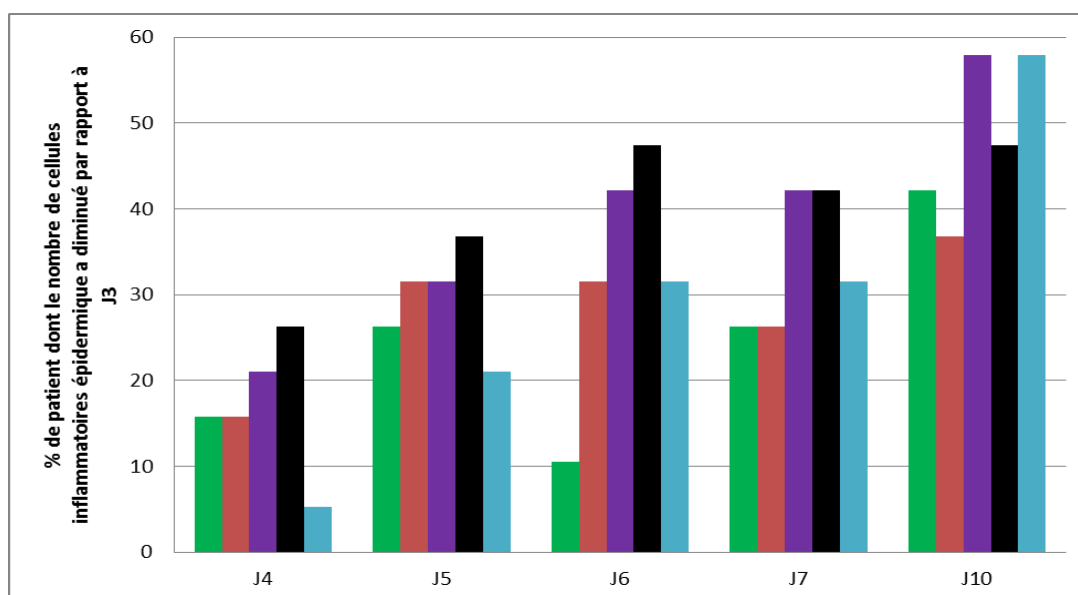
La proportion de patients pour laquelle le nombre de vésicules et de cellules inflammatoires dans le derme ont diminué, était significativement différente en fonction des traitements (respectivement $p = 0,0091$, $p = 0,0177$). A J6, le nombre de vésicules a diminué chez 58% des patients pour Dermoal®, chez 47% et 42% des patients pour Locapred® et Betneval® et chez 32% et 26% des patients pour Hydrocortisone® et le véhicule seul (Figure 52). Le nombre de cellules inflammatoires présentes dans le derme avaient diminué chez 74% des patients pour Dermoal®, 53% pour Locapred®, 47% et 42% pour Hydrocortisone® et Betneval® et 26% pour le véhicule seul (Figure 50).

A J10, alors que Dermoal® a diminué le nombre de vésicules chez 90% des patients, Betneval®, Locapred® et Hydrocortisone® avaient des effets comparables (79%, 74%, 74%) supérieurs au véhicule seul (63%) (Figure 52). Le nombre de cellules inflammatoires présentes dans le derme avaient diminué de manière comparables entre les traitements (chez 53% des patients pour Locapred®, Hydrocortisone® et le véhicule seul, chez 47% pour Dermoal® et 42% pour Betneval®) (Figure 50).

La proportion de patients pour laquelle les papilles dermiques étaient visibles de nouveau, signe de la régression de l'œdème, était significativement différente en fonction des traitements ($p = 0,0012$) (Figure 51). Sur toute la durée de l'étude, le véhicule seul avait un effet inférieur et Dermoal® un effet supérieur aux autres traitements. Locapred et Betneval® avaient des effets similaires et supérieurs à ceux d'Hydrocortisone en phase précoce.

Aucune différence entre les traitements n'a été retrouvée en ce qui concerne la diminution du nombre de patients présentant des signes de spongiose ($p = 0,6834$) (Figure 53) ou des cellules inflammatoires dans l'épiderme ($p = 0,07$) (Figure 49).

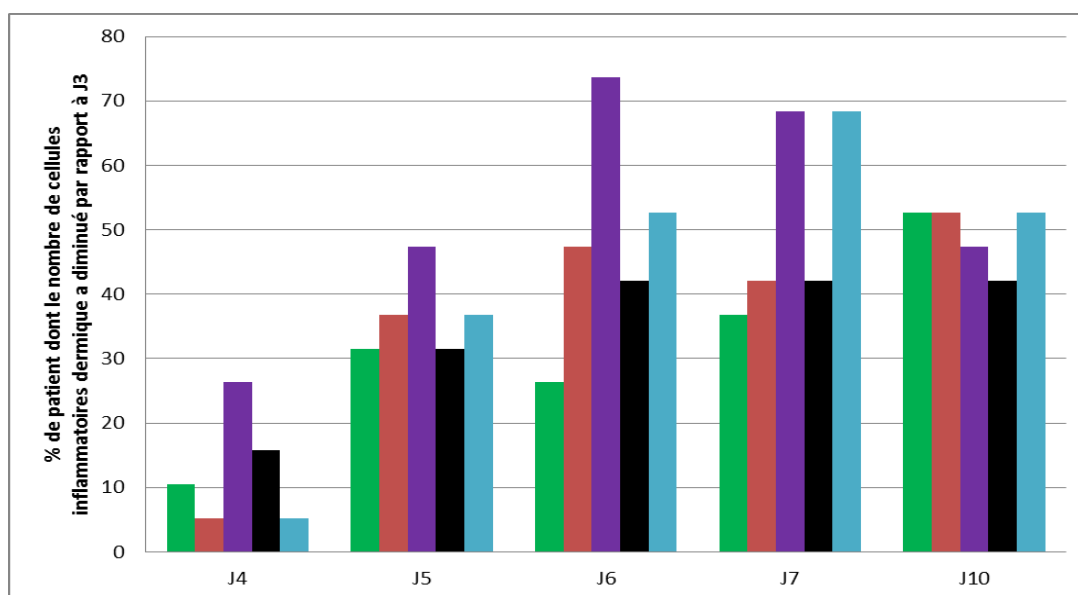
Tous traitements confondus, la valeur du score d'inflammation a évolué de manière significative au cours du temps ($p < 0,0001$) (Figure 54). Cependant, aucune différence n'a été retrouvée entre les traitements ($p = 0,6422$). A J4 le score d'inflammation s'était dégradé pour les sites traités par Locapred® et Betneval®. A J6, le score était amélioré de 47% par rapport à J3 pour Dermoal®, de 29% pour Hydrocortisone® et Betneval® et de 24% pour Locapred® et le véhicule seul. A J10 le score était en moyenne amélioré de 69% pour tous les traitements.



<i>n=17 à 19</i>	J4	J5	J6	J7	J10
Véhicule seul	16	26	11	26	42
Hydrocortisone®	16	32	32	26	37
Dermoval®	21	32	42	42	58
Betneval®	26	37	47	42	47
Locapred®	5	21	32	32	58

Figure 49 : Pourcentage de patients dont le nombre de cellules inflammatoires dans l'épiderme a diminué par rapport à J3. Les moyennes sont représentées dans le tableau.

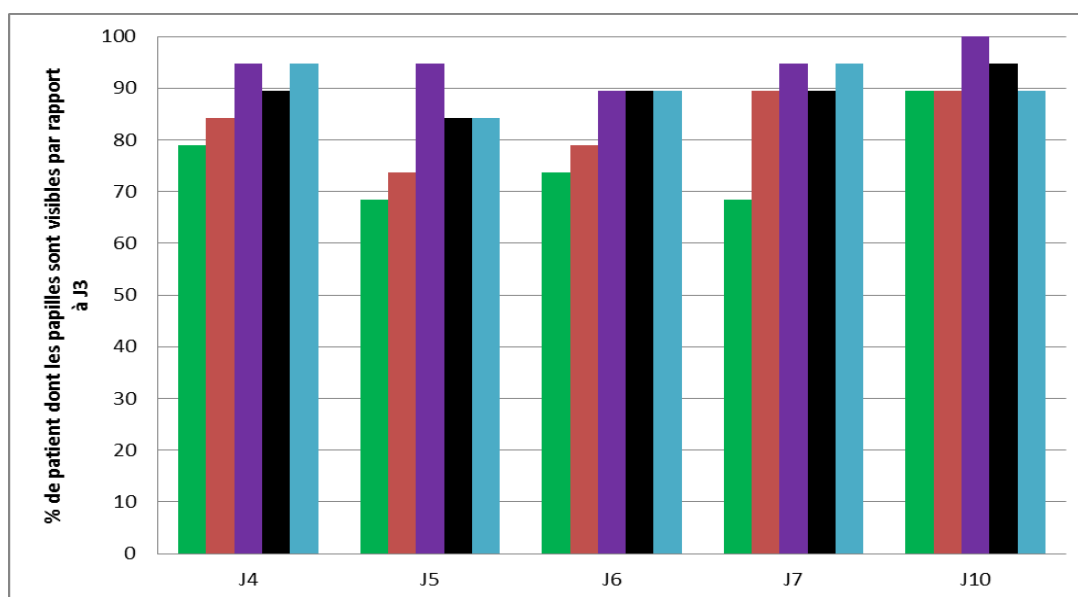
Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.



<i>n=17 à 19</i>	J4	J5	J6	J7	J10
Véhicule seul	11	32	26	37	53
Hydrocortisone®	5	37	47	42	53
Dermoval®	26	47	74	68	47
Betneval®	16	32	42	42	42
Locapred®	5	37	53	68	53

Figure 50 : Pourcentage de patients dont le nombre de cellules inflammatoires dans le derme a diminué par rapport à J3. Les moyennes sont représentées dans le tableau.

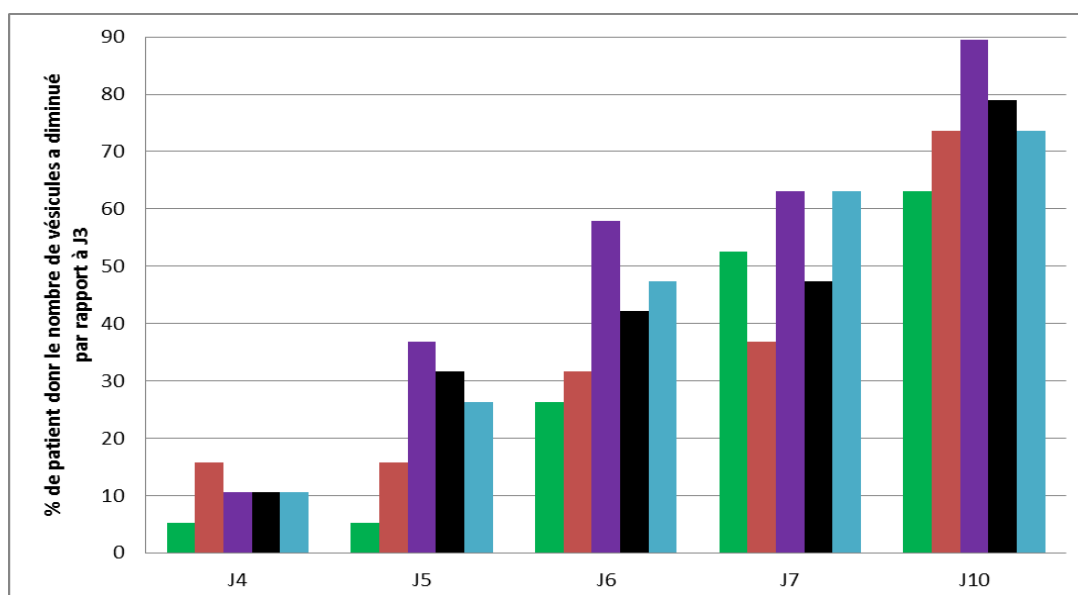
Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.



<i>n=18 à 19</i>	J4	J5	J6	J7	J10
Véhicule seul	79	68	74	68	89
Hydrocortisone®	84	74	79	89	89
Dermoval®	95	95	89	95	100
Betneval®	89	84	89	89	95
Locapred®	95	84	89	95	89

Figure 51 : Pourcentage de patients dont les papilles dermiques sont visibles par rapport à J3. Les moyennes sont représentées dans le tableau.

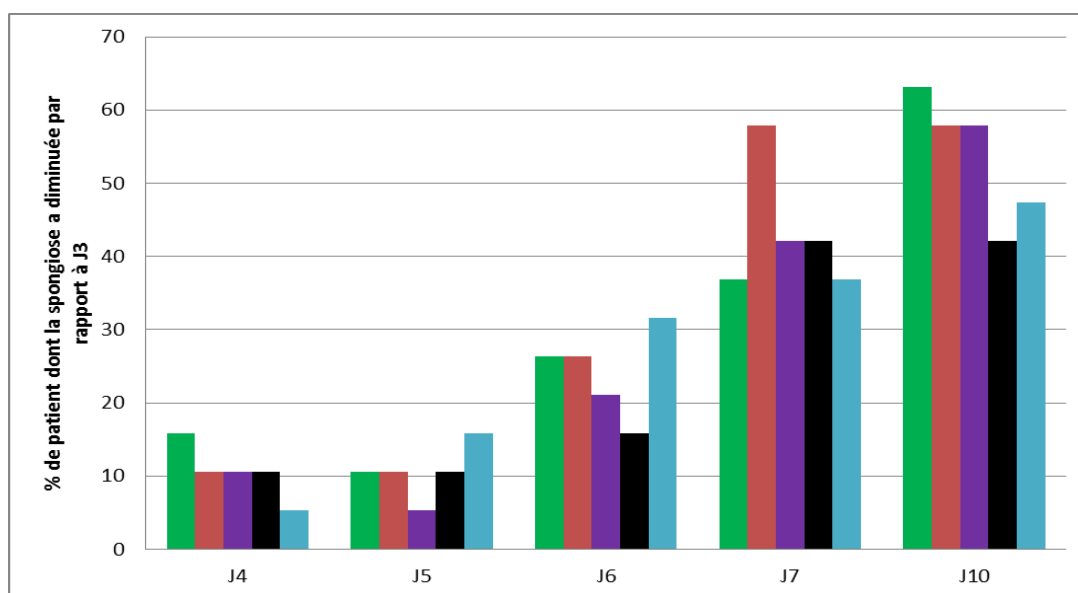
Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.



<i>n=17 à 19</i>	J4	J5	J6	J7	J10
Véhicule seul	5,3	5,3	26,3	52,6	63,2
Hydrocortisone®	16	16	32	37	74
Dermoval®	11	37	58	63	89
Betneval®	11	32	42	47	79
Locapred®	11	26	47	63	74

Figure 52 : Pourcentage de patients dont le nombre de vésicules a diminué par rapport à J3. Les moyennes sont représentées dans le tableau.

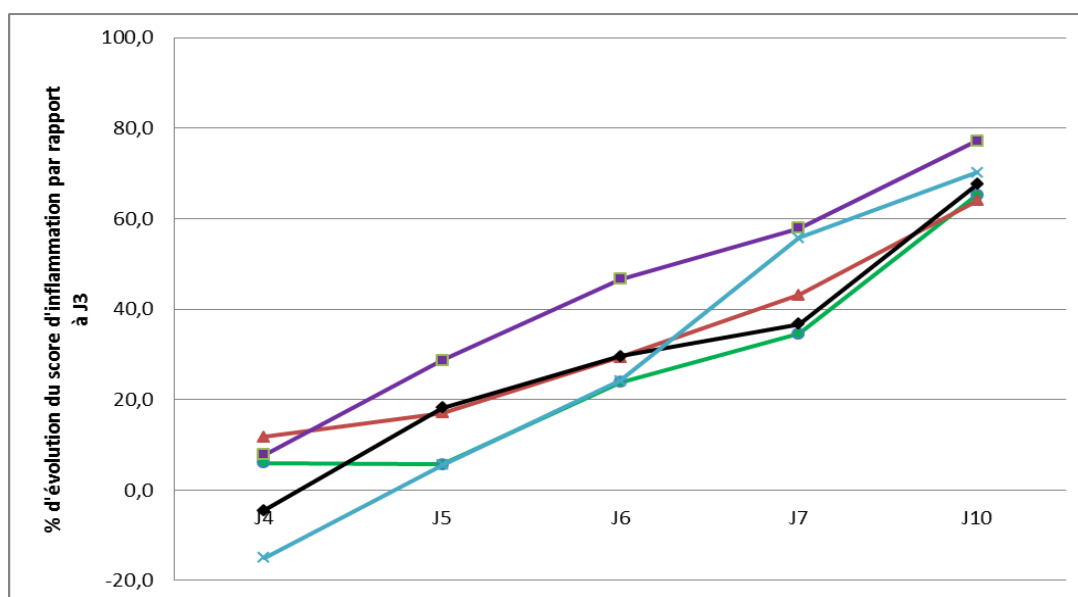
Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.



<i>n=17 à 19</i>	J4	J5	J6	J7	J10
Véhicule seul	15,8	10,5	26,3	36,8	63,2
Hydrocortisone®	11	11	26	58	58
Dermoval®	11	5	21	42	58
Betneval®	11	11	16	42	42
Locapred®	5	16	32	37	47

Figure 53 : Pourcentage de patients dont la spongieuse a diminué par rapport à J3. Les moyennes sont représentées dans le tableau.

Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.



<i>n=18 à 19</i>	J4	J5	J6	J7	J10
Véhicule seul	6 (±21)	6 (±30)	24 (±43)	35 (±42)	65 (±38)
Hydrocortisone®	12 (±30)	17 (±33)	29 (±29)	43 (±32)	64 (±57)
Dermoval®	8 (±29)	29 (±33)	47 (±40)	58 (±40)	77 (±23)
Betneval®	-4 (±46)	18 (±54)	30 (±60)	37 (±43)	68 (±30)
Locapred®	-15 (±62)	6 (±76)	24 (±86)	56 (±45)	70 (±41)

Figure 54 : Courbes représentant le pourcentage d'évolution moyen du score d'inflammation en microscopie confocale par rapport à J3. Les moyennes (± écart-type) sont représentées dans le tableau.

Véhicule seul, Hydrocortisone®, Dermoval®, Betneval®, Locapred®.

2.4 Discussion

2.4.1 La différence d'effet entre les traitements n'a pas été observée pour tous les paramètres de l'inflammation

Par cette étude clinique contrôlée en double aveugle, nous avons comparé l'effet anti-inflammatoire de quatre DC de groupes de puissance différents sur des lésions d'eczéma induit. L'induction de lésions d'eczéma par apposition de nickel sur des patients sensibilisés représente un modèle d'inflammation cutanée *in vivo* reproductible. Nous avons pu le confirmer, 24 h après le retrait des PT, par l'augmentation significative de tous les symptômes de l'inflammation que sont l'aspect clinique, l'érythème, la vasodilatation, la chaleur, le prurit, l'altération de la barrière cutanée, l'œdème et l'infiltrat inflammatoire par rapport à la peau saine.

Ces symptômes ont tous évolué vers une amélioration durant les dix jours de l'étude. Cependant, la régression de ces symptômes inflammatoire n'était pas totale. En effet un érythème persistait, comme en témoigne la cotation clinique de stade 1 et les valeurs de L^* et a^* supérieures de 7,07 (+12%) et 6,9 unités (+81%) à la peau saine. Nos résultats coïncident avec ceux d'études allergologiques qui ont retrouvé que l'aspect clinique inflammatoire des lésions induites par les patch-tests persistait, sans traitement, jusqu'à 10,7 j $\pm$ 6,1. En outre, il a été démontré que dans 18% des cas, des réactions allergiques de plus de 14 j pouvaient être observées (134).

L'augmentation du flux sanguin ainsi que l'altération de la barrière cutanée ont persisté de manière importante jusqu'à la fin de l'étude, alors qu'à l'inverse, la température cutanée et le prurit avaient totalement régressé.

Une différence significative entre les traitements a pu être mise en évidence sur le stade clinique des lésions, sur un des paramètres colorimétriques de l'érythème (L^*), sur le flux sanguin, sur la présence de vésicules et de cellules inflammatoires dans le derme et sur la visualisation des papilles dermiques. Pour les autres paramètres, aucune différence entre les traitements n'a été retrouvée.

2.4.2 Analyse de la pharmacodynamie des DC au cours du temps

L'analyse de la pharmacodynamie des traitements au cours du temps nous a permis de déterminer trois phases critiques : une phase très précoce, 24h après le premier traitement, une phase précoce à 72 h de traitement et une phase tardive. Lors de la phase très précoce, il est possible de distinguer de manière significative l'effet vasoconstricteur (flux sanguin), l'effet sur la couleur de la peau (L^*) et sur l'infiltrat inflammatoire dermique. Sur d'autres paramètres tels que la PIE, le paramètre a^* , le prurit, la température cutanée, les vésicules et l'infiltrat inflammatoire épidermique, l'effet n'était pas statistiquement significatif même si une même tendance est observée. Pour la cotation clinique, le

paramètre b^* et la spongieuse aucune distinction entre les traitements ne se dégage. Le troisième jour de traitement (J6) est un tournant important et représente le jour où la distinction des traitements était la plus importante pour tous les paramètres. En phase tardive, pour la plupart des paramètres, excepté la couleur et la PIE, plus aucune différence entre les traitements n'est observée. Contrairement à des lésions d'eczéma chronique, le patch-test est une lésion éphémère dont les signes cliniques régressent spontanément en quelques jours. Cela peut expliquer l'absence de différence d'effet entre les traitements en phase tardive. Le patch-test n'est donc pas un modèle adapté pour l'évaluation de traitements anti-inflammatoire au long cours. Enfin, les mesures réalisées aux temps intermédiaires (J5 et J7) n'ont pas apporté d'informations supplémentaires.

2.4.3 L'intérêt du laser doppler dans la comparaison de l'effet vasoconstricteur des DC

L'utilisation du laser doppler dans l'évaluation de l'effet vasoconstricteur des DC est controversée. Certains auteurs jugent cet outil non fiable du fait de son évaluation du réseau capillaire profond alors que les DC aurait plutôt un effet vasoconstricteur sur les veinules superficielles (67,68,135). A l'inverse, d'autres ont démontré la pertinence de cette méthode dans la détection de l'effet vasoconstricteur de DC tel que Dermoval® (66,69) ou encore sa forte corrélation avec la cotation clinique (136). Dans notre étude, le laser doppler a permis de discriminer de manière significative les DC selon leur activité vasoconstrictrice. De manière globale, en phase très précoce (24 h de traitement) Dermoval®, Betneval® et Locapred® exerçaient le même effet vasoconstricteur supérieur à celui du véhicule seul et d'Hydrocortisone®. Puis, progressivement Dermoval® et Betneval® se sont distingués de Locapred® et Hydrocortisone®, le véhicule seul ayant l'effet le moins vasoconstricteur. A J10, il n'existait plus aucune différence entre les traitements. Dans notre étude, la distinction entre les traitements a pu être obtenue du fait de notre modèle inflammatoire alors que la majorité des études ont lieu sur la peau saine, pour lesquelles, des modifications du flux sanguin sont trop minime pour qu'elles soient détectables par laser doppler. Cette hypothèse est appuyée par une étude ayant démontrée l'augmentation de la sensibilité de la technique lorsqu'elle appliquée sur un avant-bras rendu hyperhémique par la pose d'un garrot (124).

2.4.4 L^* , un paramètre colorimétrique discriminant pour comparer l'effet anti-érythémateux des DC

L'érythème est la résultante d'une augmentation du paramètre colorimétrique a^* et d'une diminution du paramètre L^* (80,137). Nous avons pu observer que Dermoval® améliorait le paramètre L^* plus rapidement et de manière plus efficace que les autres traitements. Cependant, aucune différence n'a été retrouvée entre Betneval® et Locapred®, de même entre Hydrocortisone® et le véhicule seul. Concernant le paramètre a^* , aucune différence entre les traitements n'a été retrouvée sur son

amélioration, même si les représentations graphiques suggèrent une tendance identique à celles du paramètre L^* . Une différence de la rougeur est perçue par l'œil à partir d'une variation de deux unités de a^* , différence uniquement visible à partir de J6 entre les sites traités par Dermalval® et ceux traités par le véhicule seul. Les études comparant l'effet vasoconstricteur des DC retrouvent généralement une différence significative du paramètre a^* entre les DC (58). Cependant Queille-Roussel *et coll.* ont aussi conclu à une meilleure valeur discriminante de L^* par rapport à a^* dans la quantification de l'effet anti-érythémateux des DC (62). De même, à l'instar de notre étude, Parneix-Spake *et coll.* n'ont pas montré de différence significative de Dermalval®, Hydrocortisone® et du véhicule seul sur la régression de a^* sur des lésions d'eczéma induit (75). La différence majeure entre notre étude et celles utilisant le chromamètre s'explique par le fait que ces dernières sont réalisées sur la peau saine dont les valeurs de a^* sont plus faibles que sur un site enflammé ce qui facilite la détection du blanchiment. En effet, la valeur de a^* est très augmentée lors du phénomène inflammatoire (doublée par rapport à la peau saine) ce qui rend la discrimination entre les traitements plus difficile. S'ajoute à cela l'accentuation de l'érythème observée dans les premiers jours de traitement du fait de la cinétique de la réaction allergologique ; Dermalval® avait d'ailleurs été le premier traitement à inverser cette accentuation de a^* . Enfin, dans la majorité des études, les variations du paramètre a^* sont étudiées dans les quarante-huit premières heures suivant le traitement par DC alors que dans notre étude, nous sommes intéressés à une cinétique plus longue.

Le paramètre b^* , correspondant à la composante jaune de la couleur de la peau, est peu augmenté dans l'érythème ce qui explique pourquoi la valeur de b^* n'a été augmentée de seulement 20% par rapport à la peau saine à J3, moment où l'érythème était maximum. Chan *et coll.* ont d'ailleurs démontré que les paramètres L^* et a^* étaient plus discriminants que le paramètre b^* dans l'évaluation du blanchiment cutané induit par les DC et recommandent d'écarter ce dernier paramètre de la couleur lors de l'analyse (138). D'autres auteurs proposent d'intégrer b^* dans une formule mathématique générale, la distance euclidienne, afin de s'affranchir de la variabilité importante de chaque paramètre pris individuellement et d'évaluer de façon plus précise le blanchiment de la peau (74). Le paramètre b^* serait cependant plus pertinent pour évaluer l'effet préventif des DC vis-à-vis de l'hyperpigmentation post-inflammatoire.

2.4.5 La variation de la température cutanée, un paramètre peu sensible

La thermographie infra-rouge sans contact a permis de quantifier avec précision l'augmentation de la température cutanée 24 h après le retrait des patch-tests ($+1,5^{\circ}\text{C} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ par rapport à la peau saine). Malgré un aspect clinique très inflammatoire (cotation clinique de stade 6 et augmentation de a^* de 101%) et une vasodilatation importante (flux sanguin augmenté de 435%), cette diminution ne représente qu'une variation de 4,9% en moyenne par rapport à la peau saine. Bien que l'outil de mesure soit suffisamment sensible (précision de $0,1^{\circ}\text{C}$), l'amplitude du phénomène n'est pas assez

importante pour qu'une distinction entre les traitements puisse être démontrée sur ce paramètre. De manière similaire à nos résultats, Luong *et coll.* ont observé une diminution de la chaleur cutanée de 0,5 à 1,3°C dans les trois premières heures suivant l'application de différents DC (99). Dans cette étude pilote, les auteurs ont retrouvés un effet de « refroidissement » plus marqué pour Diprosone® (groupe 3) que pour Dermoal® (groupe 4). Diprolène® (groupe 4) et Locoid® (groupe 2) avaient, quant à eux, un effet similaire. A l'inverse, Hydrocortisone® (groupe 1) augmentait la température cutanée. Aucun test statistique n'a été réalisé pour confirmer ces résultats divergents par rapport à la classification actuelle, cependant cette méthode pourrait constituer un moyen de comparaison de l'effet très précoce des DC.

2.4.6 La PIE, un paramètre peu adapté à notre modèle expérimental

Selon certains auteurs la mesure de la PIE est un paramètre plus sensible sur des modèles de réactions d'irritations que sur les modèles d'allergies de contact, ce qui peut expliquer pourquoi nous n'avons retrouvé aucune différence entre les traitements sur la restauration de la barrière cutanée (76). De même, Parneix-Spake *et coll.* n'ont pas retrouvé de différence significative entre Dermoal® et le véhicule seul sur la restauration de la PIE durant huit jours de traitement (75). Cependant, bien qu'il ne s'agisse que d'une tendance, nous avons observé que la PIE moyenne durant les quatre premiers jours de traitement semblait supérieure pour les sites traités par véhicule seul et Hydrocortisone®. De façon surprenante, nous avons aussi constaté que la restauration de l'intégrité de la barrière cutanée n'était pas continue. En effet, l'amélioration était progressive jusqu'au sixième jour de traitement où la valeur de PIE était proche de celle de la peau saine pour trois DC (+30% en moyenne) excepté pour le véhicule seul et Hydrocortisone® pour lesquels la PIE était la moins diminuée durant l'étude. Puis de manière surprenante une nouvelle altération de la barrière cutanée était de nouveau observée à partir de J7. Danby *et coll.* ont aussi retrouvé ce phénomène chez des patients atopiques traités pendant quatre semaines par Betneval® (139). Ces auteurs ont expliqué ce phénomène par une diminution de l'épaisseur de l'épiderme, une réduction du niveau de facteurs hydratants naturels et une différenciation kératinocytaire anormale, à l'origine de l'augmentation de la PIE. Selon cette étude, et comme nous avons pu l'observer, ce phénomène n'est observé que lors de l'utilisation prolongée de DC d'activité modérée ou forte.

2.4.7 Les nouvelles applications de la microscopie confocale dans la comparaison de l'efficacité anti-inflammatoire des DC

Le microscope confocal a fait l'objet de nombreuses publications ces dernières années dans le domaine des dermatoses inflammatoires et en particulier dans l'évaluation des patch-tests allergologiques (121,122,140,141). La sensibilité et la spécificité des trois critères microscopiques principaux que sont la spongiose, les vésicules et l'infiltrat inflammatoire avoisinent les 75 à 90%

(120). L'intérêt majeur par rapport aux autres techniques utilisées dans cette étude réside dans son évaluation directe de la réaction inflammatoire par la visualisation de manière non traumatique de l'œdème et de l'infiltrat inflammatoire. L'appareil est suffisamment sensible pour nous avoir permis de distinguer l'effet des DC sur la diminution de l'œdème, du nombre de vésicules et de l'infiltrat inflammatoire au niveau du derme, et à moindre mesure au niveau de l'épiderme. Une différence d'effet entre les DC sur la régression de l'œdème a pu être mise en évidence par la re-visualisation des papilles dermiques témoignant d'une diminution de l'exsudat. Cependant, nous n'avons pas retrouvé ces résultats par la quantification de la spongiose, pourtant plus décrit dans la littérature. Ardigò *et coll.*, dans une étude évaluant l'effet de Betneval® sur des lésions psoriasiques, a retrouvé une diminution significative de la spongiose après six semaines de traitement alors qu'aucune augmentation significative du nombre de papilles n'a été retrouvée (98). Ce dernier paramètre semblerait donc plus adapté dans l'évaluation d'une lésion inflammatoire aiguë. De plus, le manque de sensibilité du critère de la spongiose dans notre étude peut être expliqué en partie par la difficulté de cotation sur certaines lésions. En effet, les squames et croutes, souvent présentes sur ce type de lésions, ont une réfringence importante entraînant un assombrissement du reste de l'image. Parfois même, les squames peuvent faire écran et empêcher la visualisation des éléments sous-jacents. La prise en compte de l'inflammation dans sa globalité par la détermination d'un score composite est une nouvelle approche qui n'a pas encore été décrite. Le score que nous avons proposé n'a pas permis de discriminer l'effet des DC entre eux mais a l'avantage de permettre des analyses statistiques quantitatives alors que, pris indépendamment, les critères de microscopie confocale sont des paramètres qualitatifs ou semi-quantitatifs. Nous avons volontairement donné un impact plus important au nombre de vésicules lors de l'établissement du score afin de l'adapter aux lésions inflammatoires allergiques. L'intégration des phénomènes de vasodilatation à ce score, ainsi que le développement de scores encore plus élaborés et proches de la réalité histologique permettront d'augmenter les applications de la microscopie confocale vis-à-vis des dermatoses inflammatoires.

2.4.8 L'évaluation clinique, un paramètre sensible

L'évaluation clinique des lésions par un investigateur expérimenté représente un critère de jugement tout aussi pertinent qu'une mesure objective telle que la chromamétrie (61). L'amélioration des lésions était significativement différente en fonction des traitements, Dermoval® ayant montré un effet supérieur et plus rapide que les autres traitements. Aucune différence n'a cependant pu être démontrée entre Locapred® et Betneval®. Enfin, Hydrocortisone® n'a pas fait régresser les lésions plus que le véhicule seul.

2.4.9 Le prurit, un symptôme qui régresse rapidement sur notre modèle expérimental

Malgré le stade inflammatoire avancé des lésions cliniques (stade 6/8), le prurit était inconstamment rapporté et d'intensité moyenne (4,5/10). L'intensité du prurit a été réduite de manière significative au cours du temps pour tous les traitements. Bien qu'aucune différence significative n'ait pu être démontrée, à 48 h de traitement (J5), il semblerait que Dermoal® ait un effet antiprurigineux supérieur de 8% à Hydrocortisone®, Locapred® et Betneval® et supérieur de 19% au véhicule seul. Dans une précédente étude basée sur une expérimentation *ex vivo*, nous avons démontré que Dermoal® avait un effet anti-histaminolibérateur supérieur à celui de Betneval®, Locapred® et Locoid® (sel d'hydrocortisone) dont l'effet était comparable (97). La libération d'histamine étant l'un des médiateurs majeurs du prurit ; la hiérarchisation de l'effet antiprurigineux des DC utilisée dans cette étude est donc corrélée à leurs effets anti-histaminolibérateurs.

Dès le quatrième jour de traitement (J7), le prurit était amélioré pour tous les traitements de 92% en moyenne. L'absence de différences significatives entre les traitements nous laisse supposer un effet antiprurigineux basé plus sur l'effet apaisant et hydratant de l'application d'une crème plutôt qu'un réel effet pharmacologique sur la libération d'histamine notamment. Notre hypothèse est confirmée par une étude épidémiologique réalisée sur des patients atteints de psoriasis dont 86% déclaraient un effet antiprurigineux à court terme des émoullients alors qu'ils n'étaient que 78% à noter un effet des DC (142).

Cependant, contrairement à nos résultats, Ashton *et coll.* ont démontré la supériorité du Betneval® par rapport à Hydrocortisone® dans la diminution du prurit au bout d'une semaine de traitement (104). La divergence de nos résultats s'explique néanmoins par le fait que les patients de cette étude étaient atteints d'eczéma chronique et appliquaient les traitements deux fois par jour. L'application unique quotidienne n'est sans doute pas suffisante pour permettre de discriminer les traitements sur le critère du prurit. De plus, comme évoqué précédemment l'effet éphémère des lésions de patch-test, et de ce fait la régression spontanée en quelques jours du prurit, peut expliquer l'absence de différence et la régression totale du prurit pour tous les traitements à J10 alors qu'il persistait encore à la fin des trois semaines de traitement dans l'étude de Ashton *et coll.* (1,9/10 pour Betneval et 4,1/10 pour Hydrocortisone®).

2.4.10 Un véhicule pas si inerte

De même que pour plusieurs de nos paramètres, une revue de la littérature de 2000 basée sur l'évaluation de l'effet des DC sur des lésions de patch-test ne retrouvait aucune différence significative entre Hydrocortisone® et le véhicule seul sur des paramètres tels que le flux sanguin mesuré par laser doppler, l'érythème mesuré par chromamétrie, la restauration de la barrière cutanée mesurée par la PIE

ou encore la cotation clinique (76). Il est alors légitime de se demander si le véhicule seul est réellement inerte ou bien pourvu d'une quelconque activité anti-inflammatoire. Plusieurs études ont suggéré que les émoullients ou véhicules pouvaient avoir un effet anti-inflammatoire et antimitotique direct (143,144), ce qui permet ainsi d'expliquer pourquoi le véhicule d'un DC peut potentialiser de manière non négligeable son activité (118).

2.4.11 L'importance de la posologie

A noter aussi que dans la littérature, les études comparables à la nôtre, en termes de protocole et modèle, utilisaient des quantités de DC supérieures aux nôtres (de 26 mg.cm^{-2} à 105 mg.cm^{-2} contre 8 mg.cm^{-2} dans notre protocole) (76). Cependant, la quantité que nous avons appliquée se rapproche le plus de la pratique clinique puisqu'elle a été calculée à partir de l'unité phalangelette qui représente la dose quotidienne normalement conseillée. La divergence de nos résultats peut aussi s'expliquer par l'application non occlusive des traitements dans notre étude, comme cela est généralement prescrit en pratique, contrairement à de nombreuses études où l'occlusion était quasiment systématique.

2.5 Conclusion

La comparaison qualitative et quantitative des effets de quatre DC, de groupes de puissance différents, montre que Dermoval® (très puissant) est le plus rapide et le plus efficace des DC en ce qui concerne la régression des signes cliniques de l'eczéma, de l'érythème et de l'infiltrat inflammatoire. Sur ces mêmes paramètres Betneval® (puissant) et Locapred® (modéré), deux DC de groupes de puissance différents, exerçaient des effets similaires en termes de puissance et de rapidité. Hydrocortisone® (faible), quant à lui, n'a pas apporté d'amélioration supérieure au véhicule seul. En ce qui concerne, l'effet vasoconstricteur, Dermoval® et Betneval® avaient un effet similaire supérieur aux autres traitements. Hydrocortisone® était aussi puissant que Locapred® et leur effet était supérieur à celui du véhicule seul. La hiérarchisation de la puissance des DC varie donc en fonction du paramètre étudié. De même, l'étude de la pharmacodynamie au cours du temps a montré que certains DC avaient un effet très précoce plus efficace que d'autres et que cette tendance pouvait changer au cours du temps. Sur ce modèle d'eczéma induit, la différence d'effet entre les DC était maximale à 24 h (J4) et 72 h (J6) de traitement. En outre, ce modèle n'est pas adapté à l'évaluation de l'effet à long terme du fait de la guérison spontanée de la lésion.

Contrairement à ce que la classification actuelle suggère, aucune différence significative n'a été retrouvée entre les traitements en ce qui concerne la diminution de la chaleur cutanée, la restauration de la barrière cutanée, la régression du prurit et de l'œdème, et la normalisation du paramètre colorimétrique a*. La fiabilité et la précision des appareils, validées dans de nombreuses études, permettent de conclure que la différence d'effet des DC est trop minime pour pouvoir les discriminer et les classer en fonction de leur puissance. Sur ces critères et dans ces conditions, identiques à la pratique courante en termes de rythmes, de quantité et de mode d'application, les effets des DC semblent donc comparables entre eux et avec le véhicule seul. Il conviendrait d'une part d'augmenter la puissance de ces résultats par une étude sur un plus grand nombre de sujets et d'autre part d'explorer d'autres modèles inflammatoires comme des lésions psoriasiques.

Par cette étude nous avons aussi pu mettre en évidence, le faible intérêt de l'évaluation du paramètre colorimétrique b* et de la température cutanée. En effet, la variation de ce dernier paramètre est trop minime pour qu'une discrimination de l'effet des DC puisse être observée.

Les paramètres qui se sont révélés les plus discriminants (cotation clinique, érythème et vasoconstriction) sont finalement corrélés au test de vasoconstriction, à l'origine de leur classification actuelle. Comme cela a pu être démontré par plusieurs études, l'évaluation clinique, malgré sa part de subjectivité, reste donc un moyen pertinent de détermination de la puissance des DC (68,130,145). Les résultats de cette étude confirment donc ici, par des mesures complémentaires et plus adaptées, la hiérarchisation de la puissance des DC. Cependant, au vue des faibles différences entre certains

groupes, nous proposons de la simplifier en trois groupes : une classe de DC forts, une classe intermédiaire et une classe de DC ayant des propriétés proches de leur véhicule. Toutefois, cette classification est valable, selon nous, uniquement sur ces paramètres en particulier où une différence a été observée et n'est donc pas à généraliser.

Cette étude nous a enfin permis de montrer que la hiérarchisation de la puissance des DC n'était pas constante et pouvait varier en fonction des paramètres de l'inflammation étudiés et même en fonction du temps de traitement ; certains DC ayant un effet plus marqué en phase très précoce et d'autres à plus long terme. Cela nous conforte dans l'idée qu'il serait plus juste de parler des puissances des DC rapportées aux différentes cibles. En effet, nous pensons qu'une classification de la puissance des DC plus fine et adaptée à la symptomatologie permettrait d'améliorer la prise en charge des dermatoses inflammatoires.

La classification actuelle basée sur l'effet <u>vasoconstricteur</u> :	Dermoval® > Betneval® > Locapred® > Hydrocortisone® > Véhicule seul
Notre classification basée sur la <u>régression des signes cliniques de l'eczéma, l'érythème et l'infiltrat inflammatoire</u> :	Dermoval® > Betneval® = Locapred® > Hydrocortisone® = Véhicule seul
Notre classification basée sur l'effet <u>vasoconstricteur mesuré objectivement par Doppler</u> :	Dermoval® = Betneval® > Locapred® = Hydrocortisone® > Véhicule seul

2.6 Tableaux et figures complémentaires

Table I : Cotation clinique d'un patch-test allergologique selon les recommandations de l'ICDRG.

Stades	Description clinique
-	Réaction négative
+ ?	Erythème discret : réaction douteuse
+	Erythème infiltration discrète et papules éventuelles : faible réaction
++	Erythème, infiltration, papules et vésicules : réaction importante
+++	Erythème intense, infiltration, vésicules coalescentes, parfois bulle : réaction très importante
Ir	Aspect irritatif

Table II : Critères de graduation des lésions d'allergie de contact basée sur la cotation ICDRG et modifiée par Marks *et coll.* (131).

Stades	Description clinique
0	Pas de réaction
1	Douteux avec érythème léger ± œdème sans prurit
2	Erythème + prurit
3	Erythème + prurit + œdème
4	Erythème ± prurit + œdème + quelques vésicules (<25% de la surface de la lésion)
5	Erythème ± prurit + œdème + vésicules entre 25 et 50% de la surface de la lésion
6	Erythème ± prurit + œdème + vésicules entre 50 et 75% de la surface de la lésion
7	Erythème ± prurit + œdème + vésicules confluentes
8	Erythème ± prurit + œdème + vésicules + ulcération

Table III : Cotation semi-quantitative des critères de l'inflammation par microscopie confocale

Critères / Cotation	0	1	2	3
Spongiose (SP)	< 10%	10-30%	30-50%	>50%
Vésicules (VSCL)	Absence	Peu	Nombreuses	n/a
Cellules inflammatoires dans l'épiderme (CIEPI)	Absence	Peu de cellules libres ou restreintes aux vésicules	Nombreuses dans et hors vésicules	n/a
Cellules inflammatoires dans le derme (CIDER)	Absence	Peu de cellules libres ou restreintes aux vésicules	Nombreuses dans et hors vésicules	n/a
Papilles dermiques (PD)	Non visibles	Visibles	n/a	n/a

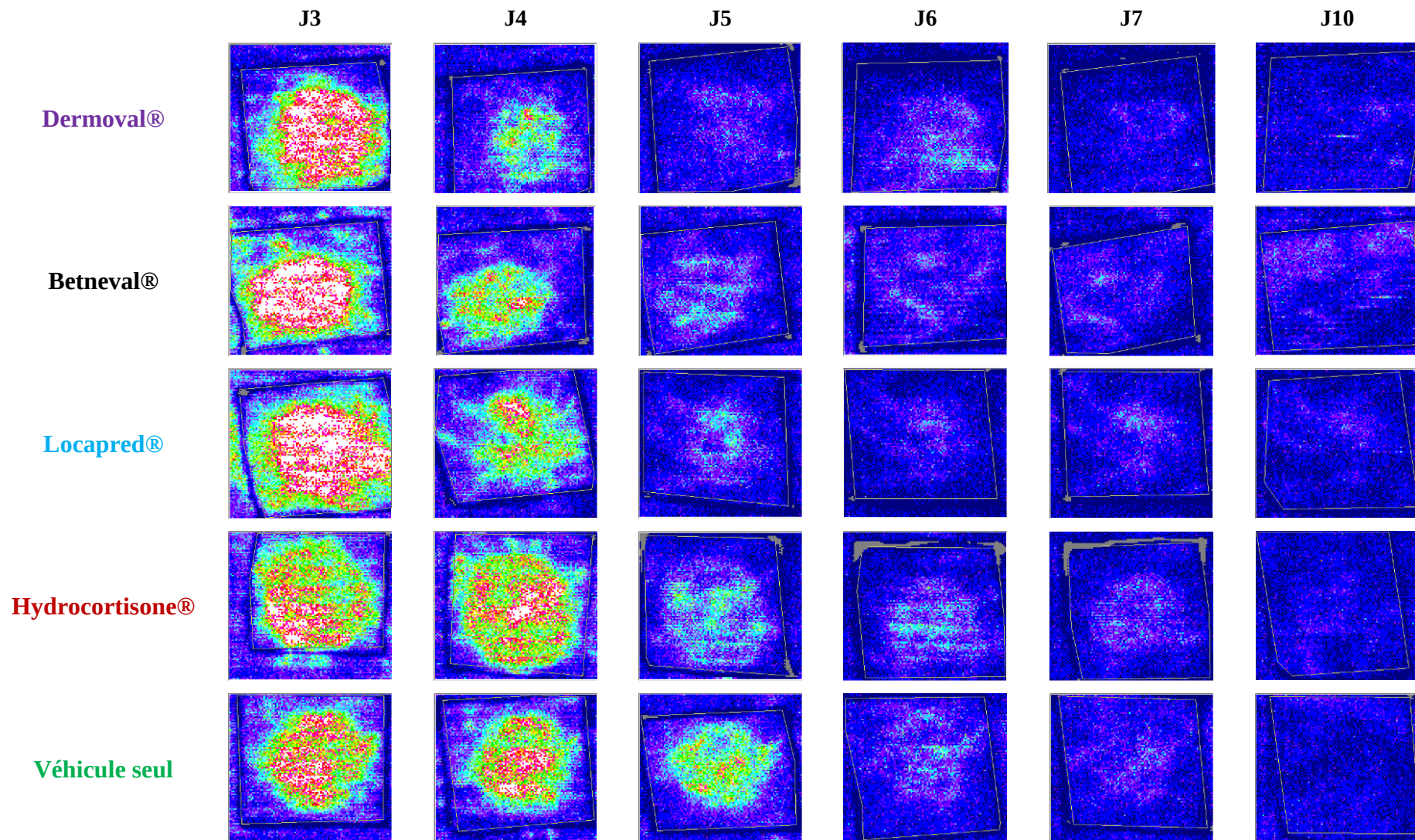


Figure 55 : Evolution du flux sanguin cutané au cours du temps en fonction des traitements. Images des lésions inflammatoires provoquées par apposition des patch-tests au nickel obtenues par laser doppler Moor LDI™.

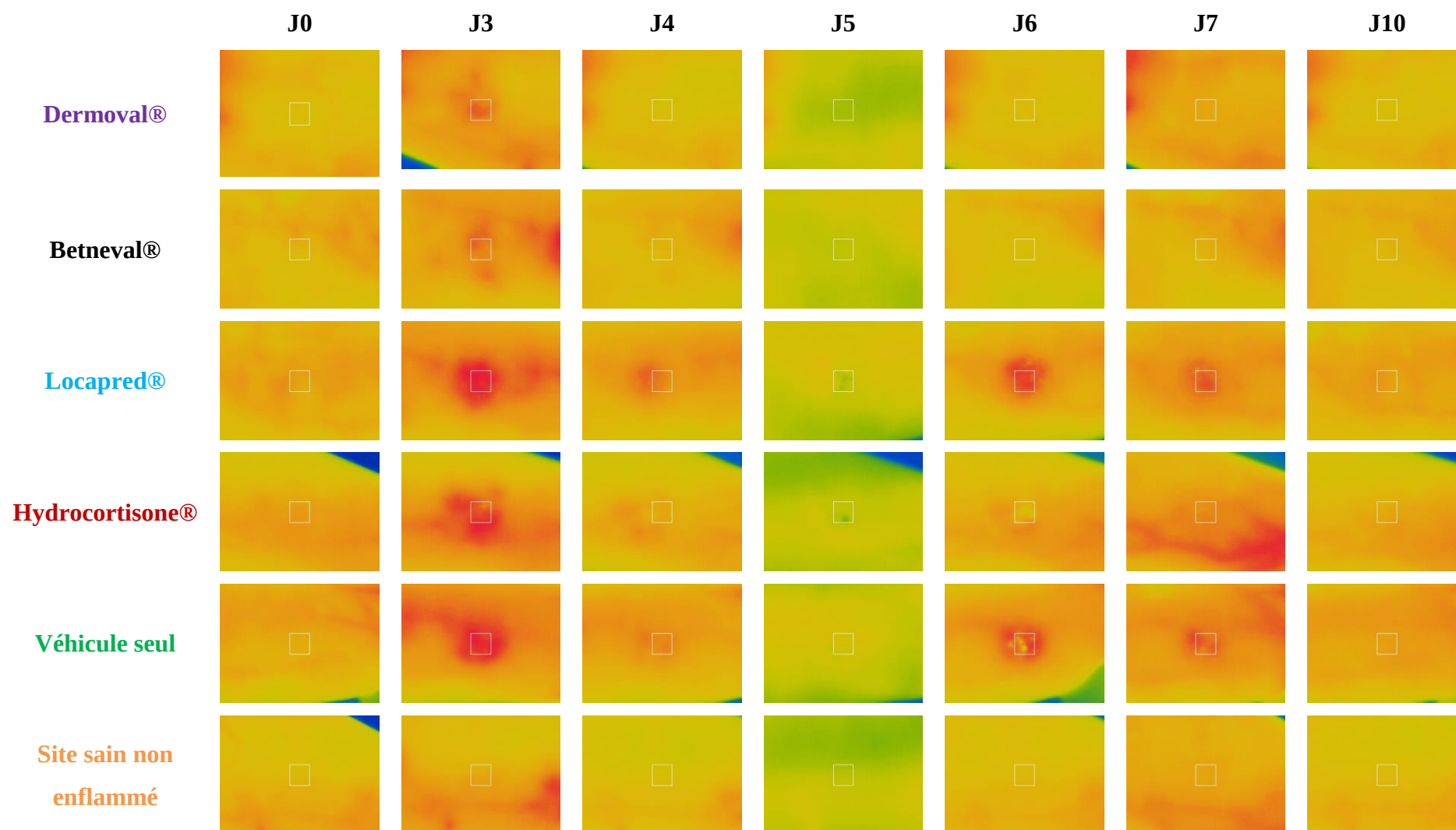


Figure 56 : Evolution de la température cutanée au cours du temps en fonction des traitements. Images obtenues par avec la caméra thermographique infra-rouge, Optris™. Les zones rouges correspondent aux températures les plus élevées.

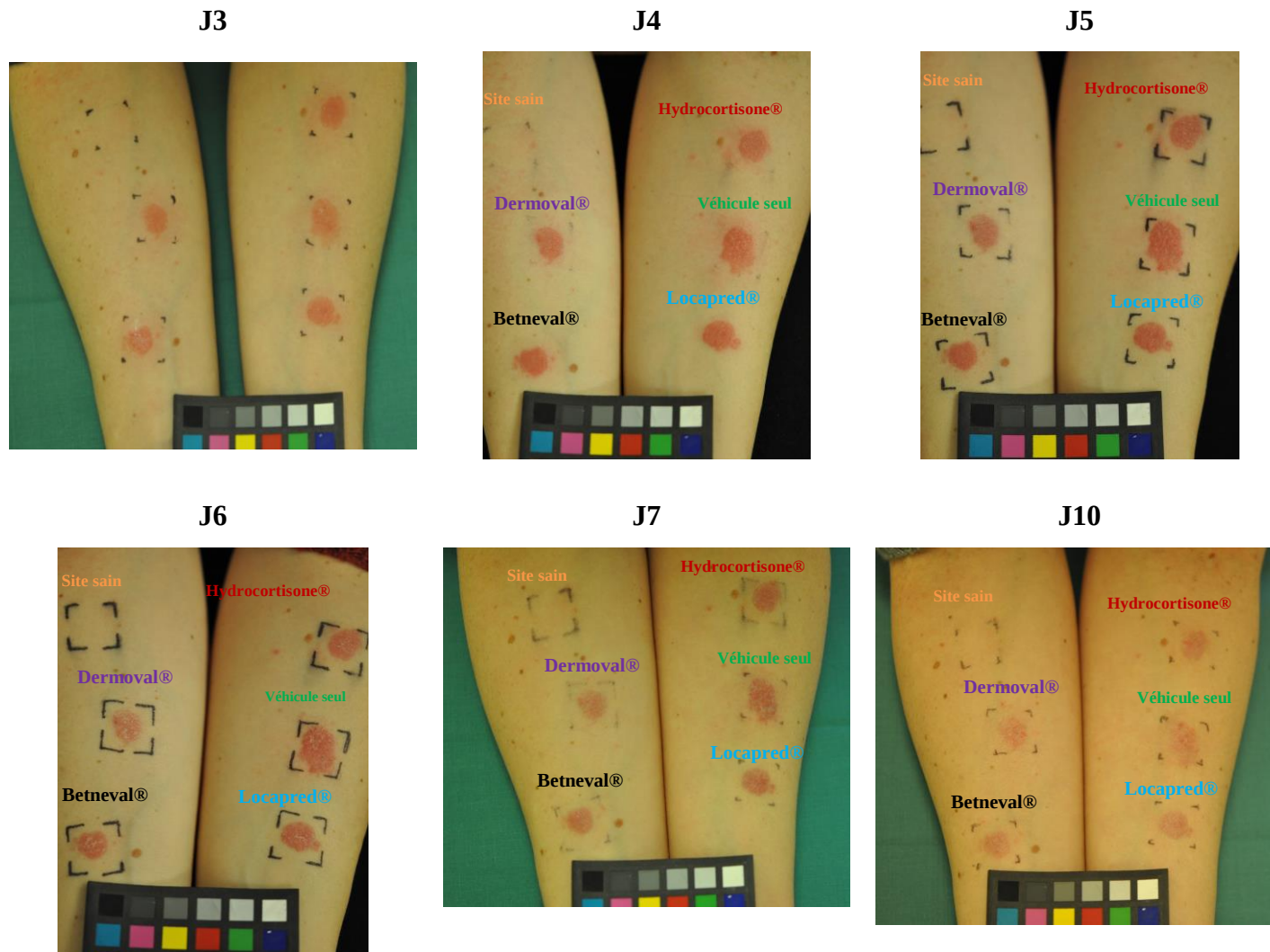
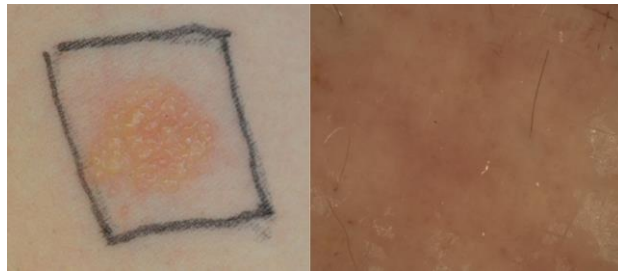
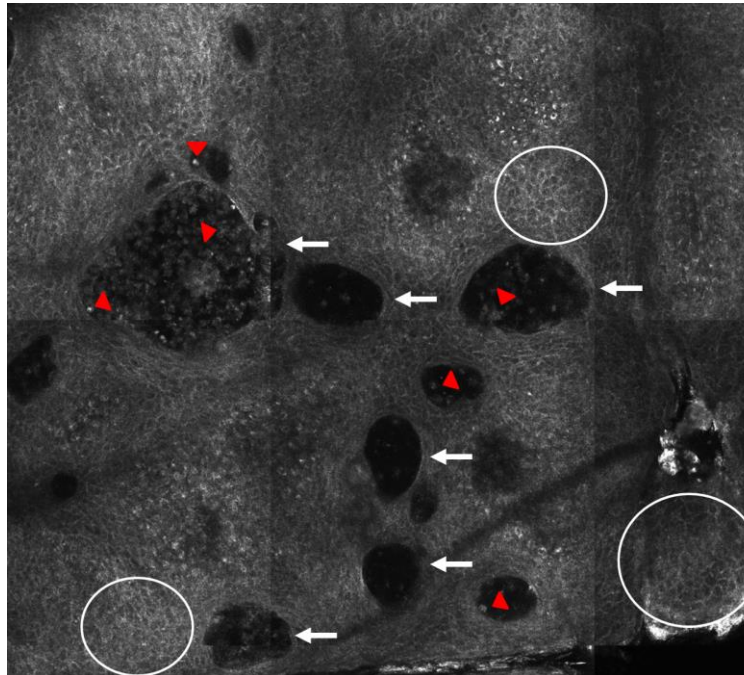


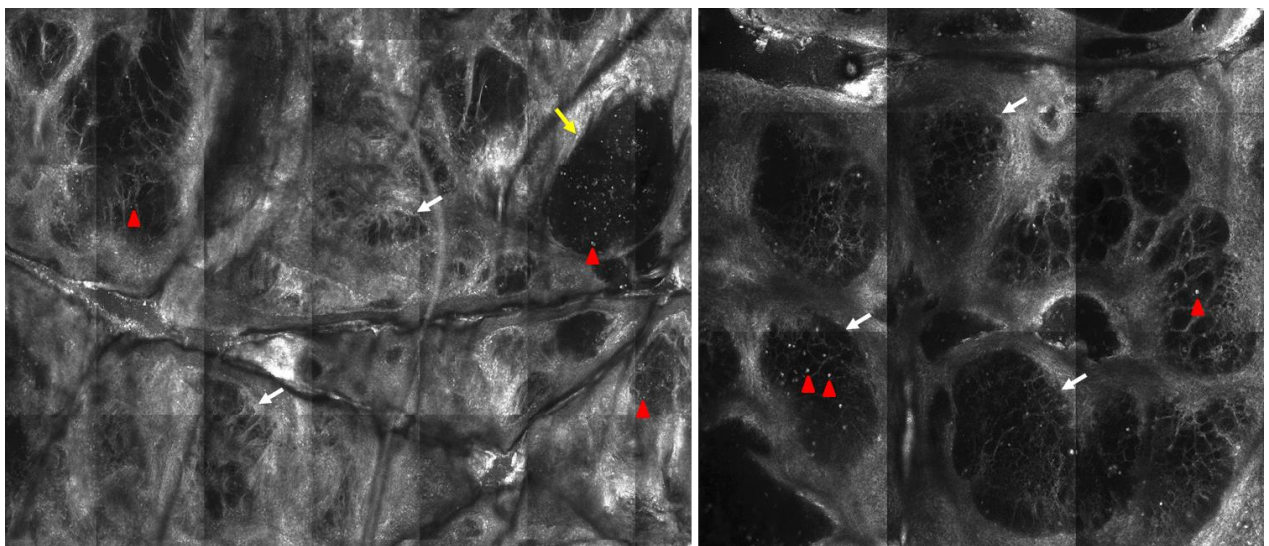
Figure 57 : Evolution de l'aspect clinique des lésions au cours du temps en fonction des traitements.



Aspect clinique et dermoscopique d'un eczéma de contact, 72 h après la pose d'un patch test au Nickel 5 % dans la vaseline.



Examen en microscopie confocale de la lésion d'eczéma de contact. Les vésicules (flèches blanches) contiennent plus au moins de leucocytes (têtes de flèches rouges). La spongiose (cercles blancs) est présente sur la quasi-totalité de la zone.



Examen en microscopie confocale de la lésion d'eczéma de contact à j7 après la pose du patch test. La plupart des vésicules se sont atrophiées et « desséchées » (flèches blanches), alors que quelques vésicules subsistent (flèche jaune). Les leucocytes (têtes de flèches rouges) sont toujours présents.

Figure 58 : Aspect clinique, dermoscopique et microscopique, par microscopie confocale in vivo, d'une lésion d'eczéma induite par apposition d'un patch-test.

Chapitre 3

*Les effets antiprolifératifs et
apoptotiques des dermocorticoïdes*

3.1 Synthèse de l'étude

3.1.1 Introduction

L'effet antiprolifératif des dermocorticoïdes (DC) sur des cellules de la peau est largement décrit dans la littérature et concerne principalement les fibroblastes. L'inhibition de la prolifération de ces cellules du derme, par blocage de la mitose et inhibition de la synthèse protéique, est responsable des effets indésirables connus des DC que sont les vergetures et l'atrophie cutanée (146). Néanmoins, cet effet délétère sur l'inhibition cellulaire peut être utilisé dans les pathologies hyper-prolifératives comme le psoriasis, les cicatrices hypertrophiques ou chéloïdes. Ainsi, nous nous sommes intéressés à l'effet antiprolifératif des DC sur des kératinocytes immortalisés hyper-proliférant en culture, les HaCaT. En effet, les techniques actuelles ne permettent pas de cultiver, *in vitro*, des keratinocytes de patients psoriasiques c'est pourquoi les HaCaT représentent le modèle cellulaire le plus proche du psoriasis. Plusieurs études, *in vitro*, ont étudié l'effet anti-inflammatoire des DC sur des kératinocytes et l'effet antiprolifératif sur des fibroblastes, mais aucune ne s'est intéressée à l'effet antiprolifératif sur les kératinocytes (117,147,148). Outre, une littérature assez pauvre sur le sujet, la comparaison des effets des DC était limitée au maximum à trois composés. La Table IV résume les données principales de ces études.

L'objectif de notre étude a donc été de comparer l'efficacité de six DC sur la prolifération, le cycle cellulaire et l'apoptose de kératinocytes en culture. Les DC choisis correspondaient aux chefs de file de chaque classe de puissance de la classification actuelle. Les kératinocytes HaCaT ont été utilisés puisqu'ils représentent un modèle expérimental proche du psoriasis.

3.1.2 Matériel et méthodes

Nous avons comparé différentes concentrations de betaméthasone 17,21-dipropionate (BDP); de clobetasol 17-propionate (CP); de désônide (DN); de betaméthasone 17-valérate (BV); d'hydrocortisone 17-butyrate (HCB) et d'hydrocortisone base (HC).

- Quantification de l'effet antiprolifératif et de la viabilité cellulaire :

Le test MTT consiste à mesurer l'activité de la succinate déshydrogénase mitochondriale des cellules vivantes. Cette enzyme, par coupure du cycle tétrazolium, transforme le MTT, de couleur jaune, en cristaux de formazan bleus. Après dissolution de ces cristaux, une lecture spectrophotométrique est réalisée. Les densités optiques obtenues sont directement proportionnelles au nombre de cellules vivantes. Ainsi une cellule viable sera bleue intense alors qu'elle sera blanche voire transparente en cas de nécrose.

- Détermination du type de mort cellulaire par marquage Annexine V/ IP couplé à la cytométrie en flux :

Dans une cellule non-apoptotique, les phosphatidylsérines membranaires ne sont situées que sur la face interne de la membrane. Dès qu'une cellule entre en apoptose, elles sont délocalisées et exprimées des deux côtés de la membrane. L'Annexine V ayant une forte affinité pour ces phosphatidylsérines va marquer les cellules apoptotiques. Il faut noter que les cellules nécrotiques (mortes) seront aussi marquées par l'Annexine V. Toutefois, il est possible de discriminer par double marquage les cellules apoptotiques des cellules nécrotiques en rajoutant de l'IP lors du marquage qui ne pénétrera que dans les cellules mortes. Les cellules en apoptose précoce seront donc marquées seulement par l'Annexine V et les cellules en nécrose ou apoptose tardive seront doublement marquées.

- Analyse de la répartition des cycles cellulaires :

L'effet des DC sur la synthèse de l'ADN et leur impact sur le cycle cellulaire ont été évalués par l'analyse des cycles cellulaires par cytométrie en flux.

3.1.3 Résultats et discussion

Nous avons pu démontrer que les DC avaient un effet antiprolifératif proportionnel à la concentration. A la concentration de 10^{-4} M, le BDP était le DC avec la plus forte activité antiproliférative alors qu'à l'inverse l'HCB était le moins puissant. De façon très surprenante, l'HC qui est considéré comme le DC le moins puissant, selon la classification actuelle, exerçait une activité antiproliférative importante. Le BDP et le BV ont induit plus d'apoptose que de nécrose contrairement aux autres DC qui induisent préférentiellement la nécrose. De plus, tous les DC, excepté le CP, ont induit un arrêt du cycle cellulaire en phase G2 ou G1. Le CP curieusement bloquait le cycle cellulaire en phase S.

A 10^{-8} M, les DC avaient un effet paradoxal et induisaient une prolifération cellulaire.

3.1.4 Conclusion

En termes d'effet antiprolifératif à 10^{-4} M, nous avons donc proposé de classer les DC de la manière suivante :

<u>La classification actuelle basée sur l'effet vasoconstricteur :</u>	CP > BDP = BV > DN = HCB > HC
<u>Notre classification basée sur l'effet antiprolifératif :</u>	BDP > DN ≥ BV = HC = CP > HCB

Notre classification diffère de la classification actuelle et semble plus adaptée au traitement des dermatoses à hyper-prolifération épidermique.

Ce travail a fait l'objet d'un article en cours de publication dans le journal « *International Journal of Pharmaceutics* ». Dans l'article, introduit ci-après, figurent le descriptif du matériel et des méthodes utilisés et, les résultats détaillés que nous avons obtenus.

Table IV : Revue de la littérature sur l'effet des glucocorticoïdes sur les kératinocytes. BDP=betamethasone 17,21-dipropionate, CP=clobetasol 17-propionate, DN=desonide, BV=betamethasone 17-valerate, HCB=hydrocortisone 17-butyrate et HC=hydrocortisone base. N/A = non disponible.

	BDP	CP	BV	HCB	DN	HC	remarques
Concentration intracellulaire / extracellulaire de DC (149)	N/A	39.7	N/A	N/A	N/A	1.9	Reflète la capacité de la molécule à pénétrer dans le kératinocyte
% de viabilité évalué par la technique du "neutral red release" (150)	N/A	N/A	Env 47%	Env 69%	N/A	Env 82%	Evaluation de la mort cellulaire par une autre technique que le MTT
Production d'IL1 suite à l'injection de TNF (117)	N/A	N/A	Synthèse IL-1 : -36%	N/A	N/A	N/A	Evaluation du pouvoir anti-inflammatoire par diminution de la synthèse de l'IL-1 (cytokine pro-inflammatoire)
Comptage au bleu trypan, 10 ⁻⁵ M, 72h contact (151)	N/A	21.10 ⁴	19.10 ⁴	N/A	N/A	29.10 ⁴	Evaluation de la mort cellulaire par une autre technique que le MTT
Chimiotactisme des HaCaT au collagène de type I utilisé comme chimioattractant à 10 ⁻⁵ M (151)	N/A	88%	79%	N/A	N/A	94%	Evaluation du retard de cicatrisation par diminution du chimiotactisme keratinocytaire
Détermination de la concentration de molécule nécessaire à l'inhibition de 50% de la croissance cellulaire (148)	GI ₅₀ = 0,22 mg/mL	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	Evaluation de l'effet antiprolifératif et quantification du GI ₅₀ .
Dosage de la caspase-3 clivée ou Asp175 (148)	75% des noyaux sont positifs à Asp175 contre 0% pour les non traités	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	Evaluation de l'effet apoptotique du DC par dosage de la caspase-3 clivée
Quantification par immuno-marquage de COX2 (148)	Augmentée	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	Evaluation du pouvoir anti-inflammatoire par diminution d'un précurseur pro-inflammatoire

3.2 Mise au point du protocole

La réalisation de cette étude a nécessité la mise au point de plusieurs étapes.

3.2.1 Essai à partir des crèmes

Afin de pouvoir extrapoler au mieux les résultats de notre étude *in vitro* avec la réalité clinique, nous avons essayé dans un premier temps d'utiliser directement le produit fini. Pour cela, nous avons réalisé plusieurs dilutions de Betneval crème 0,1%®. Notre première tentative à 10^{-3} M de betamethasone 17-valerate (soit 9,79 g de crème dans 25 mL de milieu) représentait une quantité de crème trop importante pour obtenir une dissolution complète. Nous avons ensuite tenté d'obtenir une solution moins concentrée c'est-à-dire à 10^{-4} M. A cette concentration, nous avons obtenu une dissolution complète de la crème, cependant la solution était opaque ce qui biaisait la mesure par spectrométrie et laissait un dépôt blanchâtre dans les puits de culture.

Aux difficultés de dissolution et aux problèmes d'opacité de la solution, s'ajoutait l'effet cytotoxique des excipients et du pH de la crème que nous ne pouvions contrôler. C'est pourquoi, nous avons rapidement décidé d'utiliser les principes actifs seuls sous forme de produit chimique à la place des crèmes.

3.2.2 Dilutions des principes actifs dans le milieu de culture

L'utilisation des principes actifs seuls nous apportait une plus grande rigueur scientifique dans la comparaison de l'efficacité des DC, cependant nous nous sommes confrontés à la problématique de solubiliser des molécules organiques hydrophobes dans un milieu de culture aqueux. Le solvant le plus utilisé est le DMSO à une concentration maximale de 0,5% de la solution finale. Cependant, les fortes concentrations en DC que nous voulions atteindre (10^{-4} M) nécessitaient des concentrations en DMSO supérieures à 0,5% et donc des quantités létales pour les HaCaT. Nous nous sommes ensuite intéressés à l'éthanol seul et de même qu'avec le DMSO la concentration maximale de DC était limitée. Par la suite nous avons essayé, sans succès, d'autres solvants comme le Polyethylene Glycol 300, 1500 et 8000, le glycofural, le TWIN-80 ou le tetraglycol. Soit le DC n'était pas miscible soit le solvant avait une activité cytotoxique. Un autre procédé de solubilisation a été imaginé, il s'agissait de dissoudre le DC dans l'acétone ou le dichlorométhane puis d'évaporer le solvant. La solubilisation était satisfaisante mais lors de l'évaporation la sédimentation du DC apparaissait.

Finalement, nous avons associé les deux seuls solvants ayant montré un résultat satisfaisant à savoir l'éthanol et le DMSO. Après différents essais, les concentrations optimales, c'est-à-dire pouvant dissoudre le DC (à hauteur de 10^{-4} M dans la solution finale) sans induire de cytotoxicité étaient la combinaison 0,5% d'éthanol 100% et 0,2% de DMSO.

Dans le cadre de l'étude des effets des DC sur les kératinocytes, contrairement à nos expérimentations, les différentes équipes n'ont pas utilisé des solutions de DC aussi concentrées (10^{-4} M).

3.2.3 L'ensemencement des plaques six puits

Pour la réalisation du marquage Annexine-V/IP, nous avons cultivé les HaCaT selon le protocole utilisé pour le test MTT, cependant la plus grande quantité de cellules nécessaires à l'analyse par cytométrie nous a conduit à utiliser des plaques six puits de plus grandes surfaces (D. Dutscher, Brumath, France) plutôt que les plaques 96 puits. Lors des premiers essais, nous avons calculé le nombre de cellules à ensemercer à l'aide du produit en croix des surfaces des plaques 96 et six puits et la quantité ensemencée en plaque 96 puits. Nous avons donc ensemencé 75.10^3 cellules par puits sur des plaques six puits. A J6, au moment du décollement des cellules pour marquage, chaque puits montrait un tapis cellulaire à confluence. Un surplus de cellules en culture entraîne une modification de leur comportement prolifératif et rend la trypsination difficile et non exhaustive. L'hyperactivité proliférative de cette souche d'HaCaT, nous a donc conduit à modifier le nombre de cellules ensemencées en plaques six puits. Après des essais à 30, 40, 50 et 60.10^3 cellules par puits nous avons déterminé que la concentration de 50.10^3 cellules par puits était optimale pour obtenir 70% de confluence à J6.

3.3 *L'article*

Effects of topical corticosteroids on cell proliferation, cell cycle progression and apoptosis: in vitro comparison on HaCaT.

Guichard Alexandre, PharmD, PhD^{1,2}, guichard.alexandre@gmail.com

Viennet Céline, PhD², celine.viennet@univ-fcomte.fr

Muret Patrice, MD, PhD², patrice.muret@univ-fcomte.fr

Courderot- Masuyer Carole, PharmD, PhD³, bioexigence@wanadoo.fr

Humbert Philippe, MD, PhD^{1,2}, philippe.humbert@univ-fcomte.fr

Affiliations :

¹Research and Studies Center on the Integument (CERT), Department of Dermatology, Clinical Investigation Center (CIC INSERM 1431), Besançon University Hospital, France

²Engineering and Cutaneous Biology Laboratory, INSERM UMR 1098, SFR FED 4234, University of Franche-Comte, Besançon, France

³BIOEXIGENCE S.A.S., 8 rue Alfred de Vigny, Besançon, France

Corresponding author:

Mail: celine.viennet@univ-fcomte.fr

Address: UFR SMP (Sciences Médicales et Pharmaceutiques), L.I.B.C (Laboratoire d'Ingénierie et de Biologie Cutanée), 19 Rue Ambroise Paré, 25000 BESANCON

Telephone: +33 363082210

Fax : +33 363082260

Acknowledgments: The authors wish to thank Christiane Mougin and Sylvie Fauconnet from EA3181 (Franche-Comté University, France) for their technical assistance, Laurence Nicod from EA4268 (Franche-Comté University, France) for supplying HaCaT cells, Marion Tissot for excellent technical assistance and Ahmed Elkhyat for giving scientific guidance.

Abstract :

Topical-corticosteroids are mainly used for the treatment of inflammatory or hyperproliferative skin diseases. The *in vivo* assay to rank topical-corticosteroids potency, based on the skin blanching, is not adapted to compare their anti-proliferative efficacy. We have compared the antiproliferative effect of six topical-corticosteroids on a model of hyperproliferant keratinocytes (HaCaT).

Betamethasone-dipropionate; clobetasol-propionate; betamethasone-valerate; desonide; hydrocortisone-butyrate and hydrocortisone-base, at different concentrations (10^{-8}M – 10^{-4}M) have been compared. HaCaT proliferation has been evaluated by MTT-assay and the mechanism of the death was evaluated by Annexin V/Propidium iodide staining and cell cycle phases analysis.

Topical-corticosteroids reduced cell growth in a dose-dependent manner. At 10^{-4}M , betamethasone-dipropionate was the most antiproliferative compound while hydrocortisone-butyrate was the less. Hydrocortisone-base which is usually considered as the less potent topical-corticosteroids showed a clear cytotoxic effect. Betamethasone-dipropionate and betamethasone-valerate induced more apoptosis than necrosis whereas the reverse has been observed for other topical-corticosteroids. All topical-corticosteroids, except clobetasol-propionate, arrested cell cycle mainly in G2-phase. Clobetasol-propionate arrested cell cycle in S-phase population. At 10^{-8}M , topical-corticosteroids induced HaCaT proliferation.

In terms of antiproliferative effect at 10^{-4}M , we propose to rank topical-corticosteroids as follow: betamethasone-dipropionate > desonide $\geq$ betamethasone-valerate = hydrocortisone-base = clobetasol-propionate > hydrocortisone-butyrate. This classification differs from the current ranking, based on the vasoconstrictive effect, but is more adapted for hyperproliferative disease treatment.

Keywords: HaCaT. keratinocyte. topical corticosteroid. proliferation. apoptosis. cell cycle.

1.Introduction

Topical corticosteroids (CS) are some of the most widely used drugs in dermatology, mainly for the treatment of inflammatory skin diseases such as psoriasis, atopic dermatitis, contact dermatitis or skin manifestations of autoimmune diseases.

The current standard for measuring topical CS potency is the vasoconstrictor assay or skin blanching assay. This test, described in 1962 by McKenzie and Stoughton, uses the skin pallor, induced at the site of application, as an indicator of the drug potency (1). Indeed, it is proposed that the vasoconstriction is correlated with anti-inflammatory effect and it is the basis for the currently accepted four or seven classes' classification of topical CS. Although, the vasoconstrictor assay remained the gold standard to assess topical CS anti-inflammatory efficacy, this test is probably not adapted to compare topical CS anti-proliferative efficacy. The current topical CS ranking is maybe not correlated with their antiproliferative potency.

The anti-inflammatory, immunosuppressive and anti-proliferative effects of corticosteroids (CS) result from the pleiotropic effects of the glucocorticoid receptor on multiple signaling pathways (2). The same mechanisms of action, responsible for the improvement of dermatologic inflammatory conditions, can cause adverse effects among which antiproliferative effect in fibroblasts resulting in skin atrophy following prolonged treatment (3–7). Several lines of evidence suggest that topical CS inhibit cell proliferation and mitosis and have an inhibitory effect on general protein synthesis of dermal fibroblasts (8). Antiproliferative effect of CS results often from a cytotoxic effect, a cell-cycle arrest and an induction of apoptosis (9). Cellular viability and cell proliferation have been evaluated with MTT technique for decades. This colorimetric procedure assay is based on the capacity for viable cells to metabolize a tetrazolium colourless salt to a blue formazan which is indirectly correlated to cell viability. Although the MTT assay informs on the percentage of viable cell, the mechanism of the death is evaluated with specific staining. With Annexin V and Propidium iodide staining, viable and dead cells can be recognized easily using flow cytometry analysis. Cells in early apoptosis with intact plasma membrane integrity are stained only by Annexin V, whereas cells in secondary necrosis or late apoptosis, the phase consecutive to apoptosis, contain both stains (10,11). Besides, cell cycle phases analysis contributes to understand the mechanism of the death by determining the effect of CS on DNA synthesis.

In clinical practice, the efficacy of the topical CS on epidermal proliferative skin conditions, such as psoriasis, is a combination of both anti-inflammatory and anti-proliferative effects on abnormal hyperproliferant keratinocytes. Several in vitro studies have shown the anti-inflammatory effect of topical CS on keratinocytes and their antiproliferative effect on fibroblasts, however, none focused on the antiproliferative effect on keratinocytes (6,12,13).

In the current work, we have compared the efficacy of six topical CS, representatives of different potency classes, on the keratinocyte proliferation. Cultured HaCaT, immortalized human keratinocyte line, were used as a relevant experimental model of psoriasis or hyperproliferant skin diseases.

2.Materials and methods

2.1.Materials

Dulbecco's modified Eagle's minimum essential medium (DMEM), fetal calf serum (FCS), trypsin-EDTA, phosphate-buffered saline without magnesium and calcium (PBS), penicillin (100 U/mL)-streptomycin (0.1 mg/mL) mixture, dimethyl sulfoxide (DMSO), 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium Bromide (MTT), culture flasks and plates were obtained from D. Dutscher (Brumath, France). Ethanol 100% (Et 100%) was obtained from Sigma-Aldrich (St Quentin Fallavier, France). Annexin V-FITC (AV-FITC) and propidium iodide (PI) were obtained from Clinisciences (Montrouge, France).

Human immortalized non-tumorigenic keratinocyte cell line HaCaT (Caucasian, 62 years, male, skin) was supplied by CLS Cell Lines Service (Germany).

Betamethasone 17,21-dipropionate (BDP); clobetasol 17-propionate (CP); betamethasone 17-valerate (BV); hydrocortisone 17-butyrate (HCB) and hydrocortisone base (HC) were purchased from Sigma-Aldrich (St Quentin Fallavier, France). Desonide (DN) was purchased from Alsachim (Strasbourg, France).

2.2.Preparation of solutions

CS were dissolved in 0.2% of DMSO and 0.5% of Et 100%, added to the DMEM supplemented to obtain stock solutions (10^{-4} M) and then sonicated and filtered (0.2 μ m). Different dilutions from 10^{-4} M to 10^{-8} M were extemporaneously obtained from each stock solution. Equivalent amounts of DMSO and Et 100% were used as controls. During experiments, medium without hydrocortisone and bovine pituitary extract was used.

2.3.Cell culture

HaCaT were cultured in 75 cm² culture flasks in DMEM medium supplemented with 10% (v/v) FCS and 1% (v/v) of penicillin-streptomycin in a humidified 5% CO₂ atmosphere at 37 °C. The medium was removed every 48 h, until the monolayer cultures reached 70-80% confluency. Cells were then washed with PBS, followed by incubation with trypsin-EDTA at 37°C for 10 min. The trypsin was deactivated by addition of DMEM supplemented with FCS and the cell suspension centrifuged at 1000 rpm for 5 min. The resulting supernatant was removed and fresh medium added. The suspension was then ready to be used for experimental work.

2.4.MTT cell proliferation assay

HaCaT were seeded into 96-well plates with a density of 5×10^3 cells/well, and were grown with DMEM supplemented for 72 h. Cells were then washed with PBS and 100 μ L of each CS or control solutions were added and plates were incubated for 72 h. Medium were then removed and the adhering cells were washed with PBS. MTT solution (0.5 mg/mL in DMEM) was added to the culture wells. After incubation for 4 h at 37°C, the MTT reaction medium was removed and formazan-blue was solubilized with 100 μ L of DMSO. This assay is based on

the reduction of the yellow tetrazolium salt MTT by the mitochondrial succinate dehydrogenase to form an insoluble formazan-blue product. Only viable cells with active mitochondria reduce significant amounts of MTT and formazan-blue formation was quantified with a Multiskan FC™ spectrophotometer (Fisher Scientific, Illkirch, France) at 570 nm (14).

The number of viable cells was calculated as a percentage of absorbance of the test wells over the corresponding vehicle control (DMSO/Et 100%).

Eight wells were filled for each concentration of CS and vehicle controls. Each experiment was performed five times.

2.5. Apoptosis assay and cell-cycle analysis

HaCaT were seeded in 6-well plates with a seeding density of 5×10^4 cells/well and were grown with DMEM supplemented for 72 h. Medium were then removed and 3 mL of 10^{-4} M or 10^{-8} M solutions of each CS and corresponding vehicle controls were added. Solutions 10^{-8} M and 10^{-4} M were used because they corresponded respectively to the concentration mainly used in other studies (6,12,15,16) and the more concentrated solution we could obtain in our experimental conditions. Plates were then incubated for 72 h to reach 80% confluency. Medium were then removed and the adhering cells were washed twice with PBS and were harvested by trypsinization at 37°C for 10 min. All supernatant, medium and cells were pooled for the centrifugation and were then separated in two parts for different analysis. One part was fixed and permeabilized with 70% ice-cold ethanol to firstly quantify cell death by flow cytometry as fractions with sub-G1 DNA content and secondly determine cell cycle distribution. Cells were labeled with PI, according to the manufacturer's instructions, followed by flow cytometry (FC500, Beckman Coulter, Villepinte, France).

The other part of cells was used for the quantification of apoptosis and necrosis. Cells were labeled with AV-FITC/PI, according to the manufacturer's instructions, followed by flow cytometry.

Each experiment was performed three times in triplicate.

2.6. Statistical analysis

Student's t test was performed to compare means between each CS and between each concentrations, using Statistica software (v6, Statsoft). Then a factorial ANOVA associated with a Dunnett test was performed to ranked CS potencies compared to HC considered as the standard.

3. Results and Discussion

3.1. HaCaT viability and antiproliferative effect

Topical CS are widely used in dermatology for their anti-inflammatory and antiproliferative effects. Most of the studies focused either on the clinical improvement of the skin lesion or on the in vitro anti-inflammatory effect

such as cytokine release inhibition (6,12,13) or chemotactic response inhibition (17). The antiproliferative effect have been mostly demonstrated on cells involved in inflammatory process such as T-lymphocytes or fibroblast which synthetize pro-inflammatory cytokines (12,13,18,19). Although the antiproliferative effect of topical CS on keratinocytes is well admitted, only few studies demonstrated this effect. In this work, we have compared the antiproliferative effect of six topical CS representing different classes of potency's classification, on a model of hyperproliferant keratinocytes.

The effect of the different CS on the HaCaT proliferation was determined by comparing the mitochondrial activity of HaCaT cultured either with CS or vehicle control, using MTT assay. Indeed, since the mitochondrial activity is correlated with cell proliferation, a percentage of cell higher than 100% (control) corresponded to a proliferative effect while a percentage of cell lower than 100% corresponded to an antiproliferative effect. As expected, CS reduced cell growth in a dose-dependent manner (Fig. 1). For all CS, high concentration (10^{-4} M) inhibited cell proliferation more than low concentration (10^{-8} M). At high concentration (10^{-4} M), BDP was significantly more cytotoxic (cell viability ratio = $35.8 \pm 0.8\%$) than DN which was more cytotoxic than BV, HC and CP ($p < 0.001$) (Fig 2). HCB was clearly the less cytotoxic CS (cell viability ratio = $88.9 \pm 2.0\%$) ($p < 0.001$). At 10^{-5} M, CP was the most cytotoxic CS and BDP the less (Fig. 2). Similarly, Wach *et al.* have demonstrated that CP and BV, cultured during 72 h at 10^{-5} M, inhibited HaCaT proliferation more than HC (17). However, no difference between HC and control has been found while in our study we have shown a significant inhibition of 15.1% ($p < 0.001$). Nevertheless, a difference in cell proliferation between HC and control occurred at 120 h.

Similarly to our study, Korting *et al.* have reported that HC at 10^{-5} M incubated during 72 h induced an inhibition of keratinocytes proliferation of 18% (20). However, contrary to our results, they have observed firstly a higher growth inhibition with BV and secondly a similar effect between HC and HCB. These differences can be explained by the use of neutral red release assay. Indeed, in a previous article, the same author has evoked a lack of sensitivity of neutral red release assay compared to MTT assay for some treatments (21).

As we have shown, the dose-response evolved differently depending on the CS which explains the variation of the ranking of the potency according to the concentration (Fig. 1) Thus, for CP, DN, HCB and HB the cell viability showed a steady linear decline whereas for BDP and BV it showed a plateau followed by a steep slope. The minimal concentrations to inhibit HaCaT proliferation, which can be assimilate to the efficacy, were 10^{-6} M for CP and HC, 10^{-5} M for BV and 10^{-4} M for BDP, DN and HCB (Fig. 1 and 2). Unfortunately, according to our experience and to the hydrophobic properties of CS, it is not possible to reach higher concentration of CS in keratinocytes culture medium; therefore, we determined the concentration 10^{-4} M as an endpoint. Either way, the key points are the significant antiproliferative effect of CP at 10^{-6} M (-12.1% compared to the control, $p < 0.001$) and the more potent antiproliferative effect of BDP at 10^{-4} M (-64.2% compared to the control, $p < 0.001$). Besides, HC, BV and DN seemed to have similar efficacy while, surprisingly, HCB induced a slight inhibition of HaCaT proliferation.

Interestingly, at low concentration (10^{-8} M), all CS, except BV, showed a paradoxal effect and promoted a significant cell proliferation compared to the control (100%) (Fig. 1). The proliferation was significantly more marked with HCB and DN at 10^{-8} M (respective cell viability ratios: $129.7 \pm 5.1\%$; $120.2 \pm 3.2\%$, $p < 0.001$). Whereas the proliferation decreased with the increase of the concentration, curiously, at 10^{-6} M, HCB still exerted HaCaT proliferation $110.1 \pm 4.2\%$ ($p < 0.05$) (Fig. 1 and 2). At lower concentration (10^{-9} M) results were comparable to those obtained with 10^{-8} M (data not shown). This expected mechanism explains the addition of low concentration of HC in cultured medium as a growth enhancer.

To summarize, at 10^{-5} M and 10^{-4} M, all CS inhibited significantly the HaCaT proliferation. More precisely, at 10^{-4} M, CS's potency might be ranked as following: $BDP > DN \geq BV = HC = CP > HCB$. Curiously, HC which is usually considered as the less potent CS showed a clear cytotoxic effect.

3.2. Cell death quantification by sub-G1 analysis

The antiproliferative effect is corroborated with the increase of the percentage of dead cells. The effect of CS on cell death was evaluated by analyzing the sub-G1 cell population, which corresponds to dead cells with fragmented DNA content. CS induced cells accumulation in sub-G1 phase in a dose dependent manner. At low concentration (10^{-8} M), the increase of cell death was not statistically significant compared to the control (Table 1). At high concentration (10^{-4} M), all CS induced a significant increase of the percentage of dead cells ($p < 0.01$). Similarly to the MTT assay, BDP was the more potent CS with an increase of +317% of dead cells (Table 2). Sub-G1 analysis confirmed that the decrease of HaCaT proliferation observed with MTT assay was due to a cytotoxic effect.

However for HCB, the high proliferation effect observed at low concentration (+29.7% of the control, $p < 0.001$) (Fig. 1 and 2), explained the global few antiproliferative effect at 10^{-4} M in the MTT assay while the number of death cells was sharply increased (+188% of the control) (Table 2).

3.3. Cell death forms determination

In this study, we observed that CS induced both apoptosis and necrosis (Fig. 3). At low concentration (10^{-8} M), CS, except CP, induced a low increase of early apoptosis ($p < 0.05$). Necrosis was not significantly increased (Fig. 4). At high concentration (10^{-4} M), BDP and BV induced obvious apoptosis of HaCaT with respectively early apoptosis ratio of +505% and +577% as compared to the control ($p < 0.01$) (Fig. 4). Necrosis of HaCaT was also significantly increased but in a lower manner (+427% and +508%) ($p < 0.05$). Conversely, CP, DN and HCB induced more necrosis (respectively +431%, +587%, +599%) than early apoptosis (+335%, +390%, +505% as compared to the control) ($p < 0.05$). HC induced equally increase of early apoptosis (+381%) and necrosis (+395%) ($p < 0.05$).

Accumulating evidence suggests that CS may induce cell death via different pathways resulting in apoptotic or necrotic morphologies, depending on the availability/responsiveness of the apoptotic machinery (9,22). Apoptosis

is a process initiated by a large number of signals that activate specific membrane death receptors ('extrinsic pathway') and/or intracellular mechanisms controlled by members of the bcl-2 family and the mitochondria (called 'intrinsic pathway') (23–25). Both pathways converge at the level of specific proteases, called effector caspases that are thought to be the trigger of most forms of apoptosis. In our knowledge, no study has ever compared caspases cascades of these CS. Moreover, a study which compared a number of natural and synthetic steroids, have revealed remarkable differences in their ability to trigger glucocorticoid response element-dependent gene expression, to induce apoptosis and to transrepress NF- κ B-dependent transcription (26). Stojadinovic *et al.* have described that, the antiapoptotic effect of CS on keratinocytes, is achieved through the concerted suppression of pro-apoptotic and induction of anti-apoptotic genes. The anti-apoptotic effect of CS on human keratinocytes is mediated by the regulation of apoptosis-related genes subset in a very specific manner, suggesting a complex control mechanism in human epidermis. Thus CS may have a dual effect on keratinocyte differentiation by inhibiting the early stages of differentiation while promoting the late stages (27).

In the other hand, depending upon the circumstances, CS both triggered cell death and supported survival in some cells, further documenting the pro- and anti-apoptotic potential of this hormone (22). Indeed, a study has observed an anti-apoptotic effect on keratinocytes for dexamethasone (28). This variability of the mechanism of action is correlated to the intrinsic property of the CS but also to isoforms and binding to the receptor. As an example, Hofmann *et al.* have shown that betamethasone, triamcinolone, dexamethasone and CP turned out to be better inducers of apoptosis than HC or prednisolone (26). Moreover, Ponc *et al.* have demonstrated that the difference of the penetration into cells was dependent on the molecule. The accumulation of CP in keratinocytes was 20 times higher than the accumulation of HC (intracellular/extracellular concentration ratio = 39.7 versus 1.9) (15). The transmembrane passage and the binding receptor depend on the lipid solubility. CS are lipophilic molecules with a wide range of partition coefficient ($\log P$ (o/w)), from 1.43 to 4.42 in our study (Table 3). However, we haven't found any correlation between the anti-proliferative effects and the membrane penetration capacity. Indeed, the antiproliferative effect of HCB was less important than with HC or CP, while $\log P$ (o/w) of HCB is between those of HC and CP (2.81). Nevertheless, $\log P$ (o/w) were correlated to molecular mass which explains the solubility improvement with the addition of salts, i.e. molecular mass and $\log P$ (o/w) of HCB are higher (432.55 g/mol; $\log P$ (o/w)=2.81) than those of HC (362.46 g/mol; $\log P$ (o/w)=1.43) (Table 3).

3.4.Cycle phases arrest

In response to phototoxic or pharmacologic stress, the progress of the cell cycle can be arrested at certain checkpoints that serve to maintain genomic integrity by triggering apoptosis. These checkpoints are activated by DNA damage and inhibit ongoing DNA synthesis, thus giving time for DNA repair (29). In human cells, Chk1 is the primary effector of the G2/M phase checkpoint, whereas Chk2 plays an accessory role, exerting a partial influence on the intra-S and G1/S checkpoints (30). Only few studies focused on the effect of CS on cell cycle arrest. Moreover results are controversy, while some studies showed that the glucocorticoid receptor activation induced G2-phase arrest (31), others found a G1-phase arrest (32,33). In order to further clarify the mechanism of

growth inhibition, the ability of CS to arrest cell cycle has been studied. Fig. 5 shows the impact of high concentration of CS on cell cycle distribution. At 10^{-4} M, BDP, DN, BV, HCB and HC altered cell cycle distribution of HaCaT with an increase in G2-phase cell population from +47% to +122% to the detriment of a decrease in S-phase population from -21% to -70% compared to the control ($p < 0.05$). G1-phase cell were inconstantly affected (Table 2). In the other hand, unexpectedly, CP induced a significant increase in S-phase population (+31.6%, $p < 0.05$) to the detriment of a decrease in G1- and G2-phases (respectively -25.3% and -14.5%) (Table 2). At low concentration, CS haven't had significant impact on the cell cycle, except CP which increased G1-phase to the detriment of a decrease in S-phase ($p < 0.01$) (Table 1 and Fig. 5). To our knowledge, no studies described the unexpected effect of CP in cell cycle arrest. With this preliminary study, we might suggest that CP affects preferentially delta-p53, an alternatively spliced p53 isoform, which has been considered as an essential element of the S-phase checkpoint (34). Our hypothesis, about a cell cycle arrest in S-phase induced by drugs, has already been reported with chemotherapeutic agents such as Camptothecin (35).

3.5.Comparison between the vasoconstrictor and the antiproliferative effect of CS

In topical formulation, CP, BDP, BV, DN, HCB and HC are respectively ranked from very high to low potent according to the clinical vasoconstrictor assay of McKenzie and Stoughton as follow: CP > BDP = BV > DN = HCB > HC (Table 3). In terms of antiproliferative effect at 10^{-4} M, according to our results, we propose to rank CS as follow: BDP > DN $\geq$ BV = HC = CP > HCB (Dunnett test. $p < 0.05$). Some authors, have already evoked that antiproliferative effects of topical CS do not parallel with vasoconstrictor effect in man (6,7,36). However, our study is the first which compared as many CS representing different rank of the current potency classification. It is evident that the vasoconstriction ranking predicts percutaneous absorption but do not predicts clinical efficacy with reliability, like some authors have demonstrated (37,38). Vasoconstrictor assay represents the efficacy of topical CS on vascular tone not exactly on the global skin inflammation or keratinocytes proliferation.

4.Conclusion

CS inhibit HaCaT cells proliferation and induce cell cycle arrest at G2- and G1-phases or, S-phase for CP, with significant apoptotic and necrotic potentials. The potency of the antiproliferative effect and the mechanism of action varied according to the molecule of CS. Interestingly, the ranking of antiproliferative potencies is different than the ranking based on the vasoconstrictor assay, which is still used as a gold standard in clinical practice. Indeed, BDP exerted the more potent antiproliferative effect, CP was not as potent as we expected, and HCB was less potent than HC. Further experiments are needed to explain the discrepancy of the mechanism of action of CS and the shift to necrosis rather than apoptosis. Moreover, the evaluation of the antiproliferative effect might be extending to all topical CS prescribed, in order to adapt the prescription to the type of the lesion. In fact, our classification is more adapted for the choice of CS in epidermal proliferative skin conditions than the current classification. The comparison of the efficacy of different topical steroid should be performed, in specific manner

and in relation with the target they are supposed to treat, in order to adapt the potency classification to the therapeutic indication.

References

1. McKenzieE AW, Stoughton RB. Method for comparing percutaneous absorption of steroids. Arch Dermatol. 1 nov 1962;86(5):608-10.
2. Barnes PJ. Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. Clin Sci. juin 1998;94(6):557-72.
3. Ponc M, De Kloet ER, Kempenaar JA. Corticoids and human skin fibroblasts: intracellular specific binding in relation to growth inhibition. J Invest Dermatol. oct 1980;75(4):293-6.
4. Schäfer-Korting M, Schmid MH, Korting HC. Topical glucocorticoids with improved risk-benefit ratio. Rationale of a new concept. Drug Saf. juin 1996;14(6):375-85.
5. Ramalingam A, Hirai A, Thompson EA. Glucocorticoid inhibition of fibroblast proliferation and regulation of the cyclin kinase inhibitor p21Cip1. Mol Endocrinol. mai 1997;11(5):577-86.
6. Lange K, Kleuser B, Gysler A, Bader M, Maia C, Scheidereit C, et al. Cutaneous inflammation and proliferation in vitro: differential effects and mode of action of topical glucocorticoids. Skin Pharmacol Appl Skin Physiol. avr 2000;13(2):93-103.
7. Korting HC, Unholzer A, Schäfer-Korting M, Tausch I, Gassmueller J, Nietsch K-H. Different skin thinning potential of equipotent medium-strength glucocorticoids. Skin Pharmacol Appl Skin Physiol. avr 2002;15(2):85-91.
8. Hein R, Korting HC, Mehring T. Differential effect of medium potent nonhalogenated double-ester-type and conventional glucocorticoids on proliferation and chemotaxis of fibroblasts in vitro. Skin Pharmacol. 1994;7(5):300-6.
9. Amsterdam A, Tajima K, Sasson R. Cell-specific regulation of apoptosis by glucocorticoids: implication to their anti-inflammatory action. Biochem Pharmacol. sept 2002;64(5-6):843-50.
10. Vermes I, Haanen C, Reutelingsperger C. Flow cytometry of apoptotic cell death. Journal of Immunological Methods. 21 sept 2000;243(1-2):167-90.
11. Kravchenko-Balasha N, Mizrachy-Schwartz S, Klein S, Levitzki A. Shift from Apoptotic to Necrotic Cell Death during Human Papillomavirus-induced Transformation of Keratinocytes. J Biol Chem. 24 avr 2009;284(17):11717-27.

12. Lange K, Gysler A, Bader M, Kleuser B, Korting HC, Schäfer-Korting M. Prednicarbate versus conventional topical glucocorticoids: pharmacodynamic characterization in vitro. *Pharm Res.* déc 1997;14(12):1744-9.
13. Zulfakar MH, Ong CMY, Heard CM. The effects of betamethasone dipropionate and fish oil on HaCaT proliferation and apoptosis. *Int J Pharm.* 15 sept 2012;434(1-2):399-405.
14. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods.* 16 déc 1983;65(1-2):55-63.
15. Ponc M, Kempenaar JA. Biphasic entry of glucocorticoids into cultured human skin keratinocytes and fibroblasts. *Arch Dermatol Res.* 1983;275(5):334-44.
16. Ponc M, Kempenaar JA, De Kloet ER. Corticoids and cultured human epidermal keratinocytes: specific intracellular binding and clinical efficacy. *J Invest Dermatol.* mars 1981;76(3):211-4.
17. Wach F, Bosserhoff A, Kurzidym U, Nowok K, Landthaler M, Hein R. Effects of mometasone furoate on human keratinocytes and fibroblasts in vitro. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol.* févr 1998;11(1):43-51.
18. Almawi WY, Tamim H. Posttranscriptional mechanisms of glucocorticoid antiproliferative effects: glucocorticoids inhibit IL-6-induced proliferation of B9 hybridoma cells. *Cell Transplant.* avr 2001;10(2):161-4.
19. Goodwin JS, Atluru D, Sierakowski S, Lianos EA. Mechanism of action of glucocorticosteroids. Inhibition of T cell proliferation and interleukin 2 production by hydrocortisone is reversed by leukotriene B4. *J Clin Invest.* avr 1986;77(4):1244-50.
20. Korting HC, Hülsebus E, Kersch M, Greber R, Schäfer-Korting M. Discrimination of the toxic potential of chemically differing topical glucocorticoids using a neutral red release assay with human keratinocytes and fibroblasts. *Br J Dermatol.* juill 1995;133(1):54-9.
21. Korting HC, Schindler S, Hartinger A, Kersch M, Angerpointner T, Maibach HI. MTT-assay and neutral red release (NRR)-assay: relative role in the prediction of the irritancy potential of surfactants. *Life Sci.* 1994;55(7):533-40.
22. Schmidt S, Rainer J, Ploner C, Presul E, Riml S, Kofler R. Glucocorticoid-induced apoptosis and glucocorticoid resistance: molecular mechanisms and clinical relevance. *Cell Death Differ.* juill 2004;11 Suppl 1:S45-55.
23. Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: signaling and modulation. *Science.* 28 août 1998;281(5381):1305-8.
24. Green DR. Apoptotic pathways: the roads to ruin. *Cell.* 18 sept 1998;94(6):695-8.

25. Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature*. 12 oct 2000;407(6805):770-6.
26. Hofmann TG, Hehner SP, Bacher S, Dröge W, Schmitz ML. Various glucocorticoids differ in their ability to induce gene expression, apoptosis and to repress NF-kappaB-dependent transcription. *FEBS Lett*. 28 déc 1998;441(3):441-6.
27. Stojadinovic O, Lee B, Vouthounis C, Vukelic S, Pastar I, Blumenberg M, et al. Novel genomic effects of glucocorticoids in epidermal keratinocytes: inhibition of apoptosis, interferon-gamma pathway, and wound healing along with promotion of terminal differentiation. *J Biol Chem*. 9 févr 2007;282(6):4021-34.
28. Trautmann A, Akdis M, Schmid-Grendelmeier P, Disch R, Bröcker EB, Blaser K, et al. Targeting keratinocyte apoptosis in the treatment of atopic dermatitis and allergic contact dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. nov 2001;108(5):839-46.
29. Ye X, Franco AA, Santos H, Nelson DM, Kaufman PD, Adams PD. Defective S phase chromatin assembly causes DNA damage, activation of the S phase checkpoint, and S phase arrest. *Mol Cell*. févr 2003;11(2):341-51.
30. Bartek J, Lukas J. Chk1 and Chk2 kinases in checkpoint control and cancer. *Cancer Cell*. mai 2003;3(5):421-9.
31. Sherman MP, de Noronha CM, Pearce D, Greene WC. Human immunodeficiency virus type 1 Vpr contains two leucine-rich helices that mediate glucocorticoid receptor coactivation independently of its effects on G(2) cell cycle arrest. *J Virol*. sept 2000;74(17):8159-65.
32. Ausserlechner MJ, Obexer P, Böck G, Geley S, Kofler R. Cyclin D3 and c-MYC control glucocorticoid-induced cell cycle arrest but not apoptosis in lymphoblastic leukemia cells. *Cell Death Differ*. févr 2004;11(2):165-74.
33. Li H, Qian W, Weng X, Wu Z, Li H, Zhuang Q, et al. Glucocorticoid receptor and sequential P53 activation by dexamethasone mediates apoptosis and cell cycle arrest of osteoblastic MC3T3-E1 cells. *PLoS ONE*. 2012;7(6):e37030.
34. Rohaly G, Chemnitz J, Dehde S, Nunez AM, Heukeshoven J, Deppert W, et al. A Novel Human p53 Isoform Is an Essential Element of the ATR-Intra-S Phase Checkpoint. *Cell*. 15 juill 2005;122(1):21-32.
35. Shao R-G, Cao C-X, Shimizu T, O'Connor PM, Kohn KW, Pommier Y. Abrogation of an S-Phase Checkpoint and Potentiation of Camptothecin Cytotoxicity by 7-Hydroxystaurosporine (UCN-01) in Human Cancer Cell Lines, Possibly Influenced by p53 Function. *Cancer Res*. 15 sept 1997;57(18):4029-35.
36. Kerscher MJ, Korting HC. Topical glucocorticoids of the non-fluorinated double-ester type. Lack of atrophogenicity in normal skin as assessed by high-frequency ultrasound. *Acta Derm Venereol*. 1992;72(3):214-6.

37. Hepburn DJ, Aeling JL, Weston WL. A reappraisal of topical steroid potency. *Pediatr Dermatol.* juin 1996;13(3):239-45.
38. Courderot-Masuyer C, Robin S, Tauzin H, Harbon S, Mac-Mary S, Guichard A, et al. Evaluation of the Effects of Corticosteroids on Histamine Release by ex vivo Cutaneous Microdialysis. *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications.* 2013;03(03):228-33.

Table 1: Percentage of HaCaT cell cycle phases and sub-G1 phase after six CS exposure at 10^{-8} M. Means $\pm$ SEM (% of difference to the control). $6 < n < 9$. * $p < 0.05$, ns: not significant. BDP=betamethasone 17,21-dipropionate, CP=clobetasol 17-propionate, DN=desonide, BV=betamethasone 17-valerate, HCB=hydrocortisone 17-butyrate and HC=hydrocortisone base.

	%sub G1	% G1-phase	%S-phase	% G2-phase
CONTROL	17.2 $\pm$ 2.6	35.9 $\pm$ 1.7	42.7 $\pm$ 2.1	19.9 $\pm$ 0.6
BDP	27.8 $\pm$ 3.9 (+62%) ns	37.3 $\pm$ 3.0 (+3.9%) ns	39.2 $\pm$ 2.9 (-8.2%) ns	21.1 $\pm$ 1.2 (+6.1%) ns
CP	11.5 $\pm$ 3.5 (-33%) ns	48.5 $\pm$ 1.2 (+35.2%) *	32.9 $\pm$ 1.2 (-22.9%) *	18.6 $\pm$ 0.6 (-6.8%) *
DN	22.2 $\pm$ 4.4 (+30%) ns	30.8 $\pm$ 3.3 (-14.1%) ns	45.1 $\pm$ 3.3 (+5.4%) ns	19.9 $\pm$ 1.4 (-0.2%) ns
BV	26.9 $\pm$ 2.5 (+57%) *	36.5 $\pm$ 3.5 (+1.7%) ns	39.7 $\pm$ 2.9 (-7.1%) ns	21.0 $\pm$ 1.3 (+5.3%) ns
HCB	20.9 $\pm$ 4.9 (+22%) ns	34.5 $\pm$ 1.8 (-3.8%) ns	44.2 $\pm$ 2.9 (+3.5%) ns	21.3 $\pm$ 1.8 (+6.7%) ns
HC	24.2 $\pm$ 4.8 (+41%) ns	33.0 $\pm$ 2.5 (-8.0%) ns	42.3 $\pm$ 2.9 (-1.0%) ns	21.0 $\pm$ 1.2 (+5.7%) ns

Table 2: Percentage of HaCaT cell cycle phases and sub-G1 phase after six CS exposure at 10^{-4} M. Means $\pm$ SEM (% of difference to the control). $6 < n < 9$. * $p < 0.05$, ns: not significant. BDP=betamethasone 17,21-dipropionate. CP=clobetasol 17-propionate. DN=desonide. BV=betamethasone 17-valerate. HCB=hydrocortisone 17-butyrate and HC=hydrocortisone base.

	%sub G1	% G1-phase	%S-phase	% G2-phase
CONTROL	13.6 $\pm$ 1.5	40.6 $\pm$ 3.1	41.0 $\pm$ 2.8	18.4 $\pm$ 0.6
BDP	56.7 $\pm$ 2.8 (+317%)*	44.8 $\pm$ 4.2 (+10.4%) ns	27.4 $\pm$ 2.7 (-33.1%)*	27.0 $\pm$ 1.7 (+46.6%)*
CP	30.1 $\pm$ 8.7 (+121%)ns	30.3 $\pm$ 2.0 (-25.3%)*	53.9 $\pm$ 3.1 (+31.6%) *	15.8 $\pm$ 3.4 (-14.5%) ns
DN	33.4 $\pm$ 5.0 (+146%)*	53.0 $\pm$ 3.0 (+30.8%)*	12.3 $\pm$ 1.8 (-70.1%)*	32.2 $\pm$ 2.2 (+74.8%)*
BV	41.2 $\pm$ 4.5 (+203%)*	39.2 $\pm$ 2.7 (-3.4%) ns	32.5 $\pm$ 1.0 (-20.7%)*	28.3 $\pm$ 2.5 (+53.7%)*
HCB	39.1 $\pm$ 4.1 (+188%)*	41.7 $\pm$ 3.1 (+2.7%) ns	15.6 $\pm$ 1.7 (-61.9%)*	41.0 $\pm$ 1.6* (+122.3%)*
HC	44.9 $\pm$ 3.9 (+230%)*	26.9 $\pm$ 3.5 (-33.6%)*	34.0 $\pm$ 1.9 (-17.2%) ns	37.7 $\pm$ 3.9 (+104.5%) *

Table 3: Main properties of the six topical CS tested. BDP=betamethasone 17,21-dipropionate. CP=clobetasol 17-propionate. DN=desonide. BV=betamethasone 17-valerate. HCB=hydrocortisone 17-butyrate and HC=hydrocortisone base.

	Molecular mass (g.mol ⁻¹)	Partition coefficient : log P (o/w)	Potency according to the vasoconstrictor assay
BDP	504.6	4.42	High
CP	467	3.98	Very High
DN	416.51	2.62	Moderate
BV	476.58	3.78	High
HCB	432.55	2.81	Moderate
HC	362.46	1.43	Low

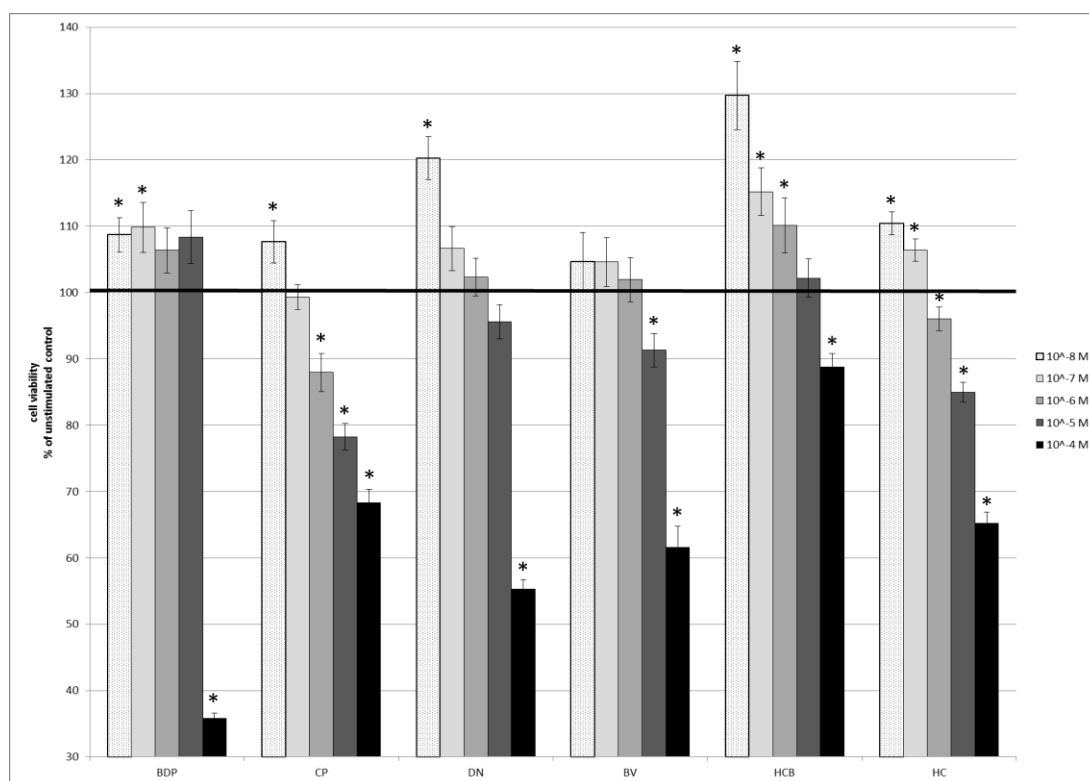


Figure 1: Dose response histogram of six CS. The data are represented as the percentage change in proliferation in relation to the unstimulated control. Means $\pm$ SEM of five independent assays with readout of eight wells for each condition. * significantly different from control (100%) ($p < 0.05$). BDP=betamethasone 17,21-dipropionate, CP=clobetasol 17-propionate, DN=desonide, BV=betamethasone 17-valerate, HCB=hydrocortisone 17-butyrate and HC=hydrocortisone base.

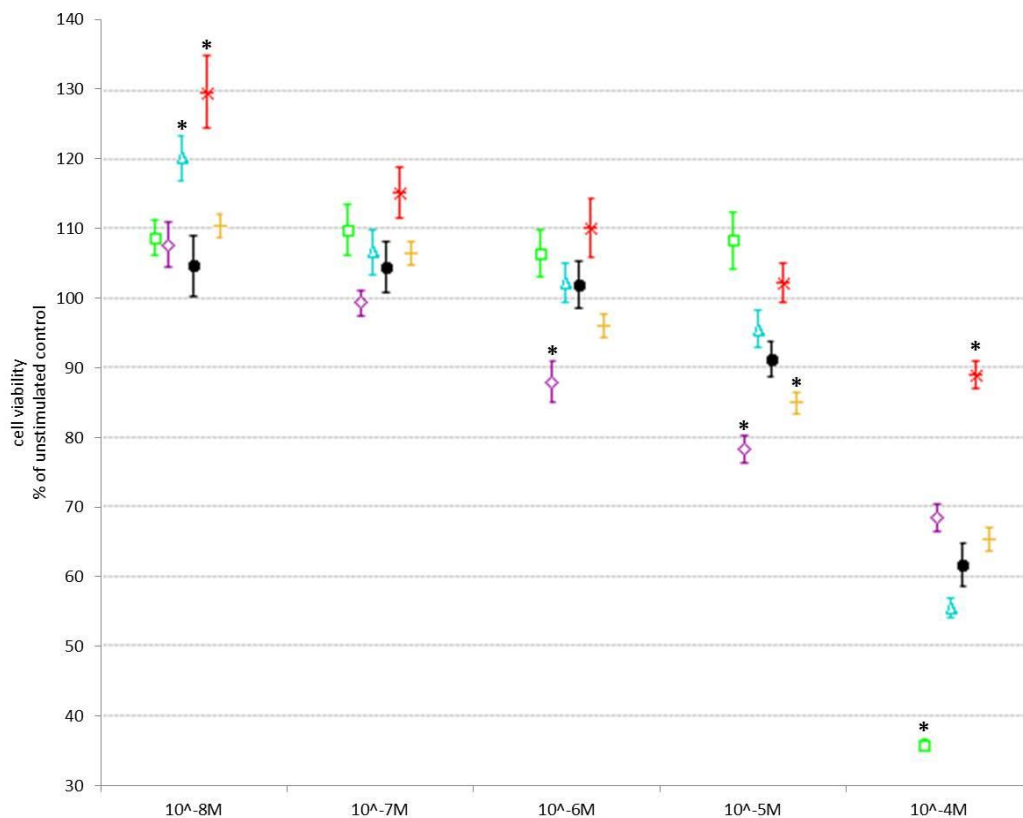


Figure 2: Comparison of the antiproliferative effect between six CS according to the concentration. Boxplot means $\pm$ SEM. BDP=betamethasone 17,21-dipropionate (green square), CP=clobetasol 17-propionate (purple lozenge), DN=desonide (blue triangle), BV=betamethasone 17-valerate (black circle), HCB=hydrocortisone 17-butyrate (red star), HC=hydrocortisone base (orange dash). Only the main significant difference were represented (*: $p < 0.05$).

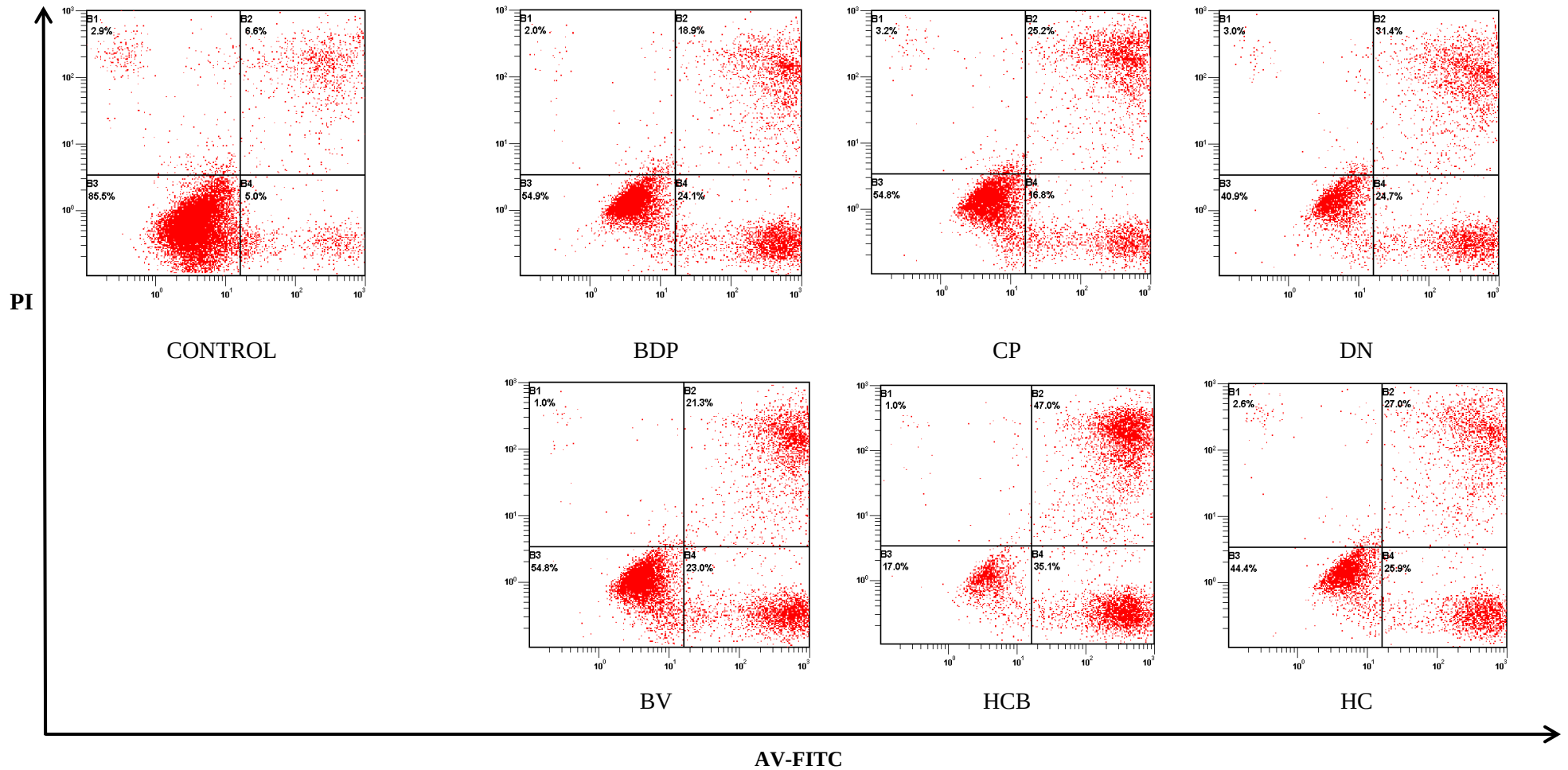


Figure 3: Apoptosis and necrosis response to topical CS exposure at 10^{-4} M. Representative images of AV-FITC/PI flow cytometric assay. Early apoptosis (Annexin V+/PI-: lower right quadrant). Late apoptosis or necrosis (Annexin V+/PI+ cells: upper right quadrant). Viable HaCaT (Annexin V-/PI-: bottom left quadrant) and damaged cells (upper left quadrant). BDP=betamethasone 17,21-dipropionate. CP=clobetasol 17-propionate. DN=desonide. BV=betamethasone 17-valerate. HCB=hydrocortisone 17-butyrate and HC=hydrocortisone base.

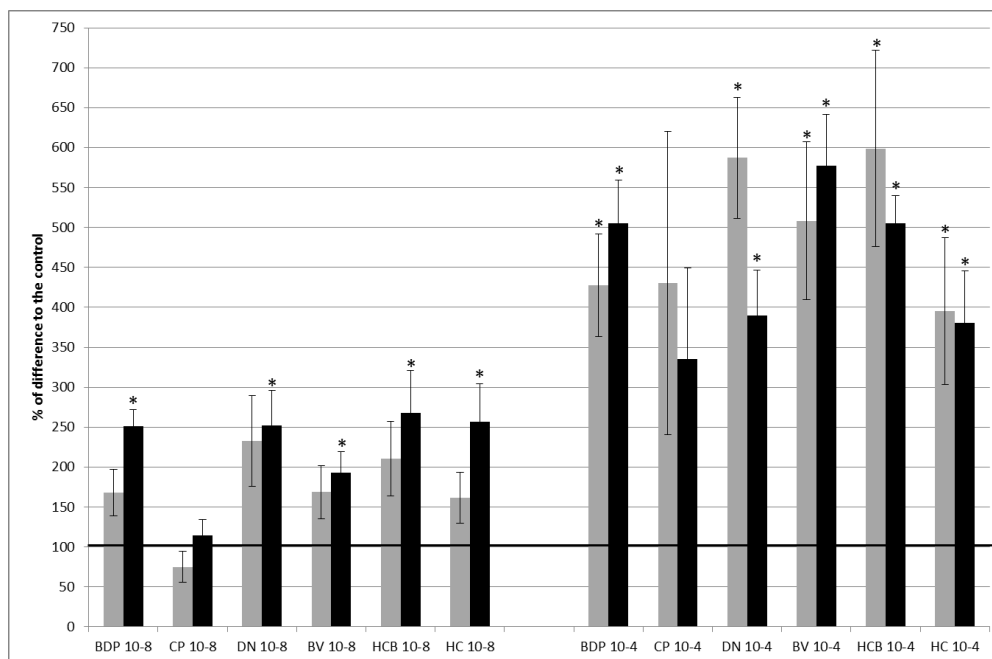


Figure 4: Apoptosis and necrosis response to topical CS exposure at 10^{-8} M and 10^{-4} M. The bars represented the percentage of change of apoptotic or necrotic cells in relation to the unstimulated control (black lines 100%). Means $\pm$ SEM of three independent assays with readout of three wells for each condition. Grey bars : necrosis. Black bars : apoptosis. * significantly different from control (100%) ($p < 0.05$). BDP=betamethasone 17,21-dipropionate. CP=clobetasol 17-propionate. DN=desonide. BV=betamethasone 17-valerate. HCB=hydrocortisone 17-butyrate and HC=hydrocortisone base.

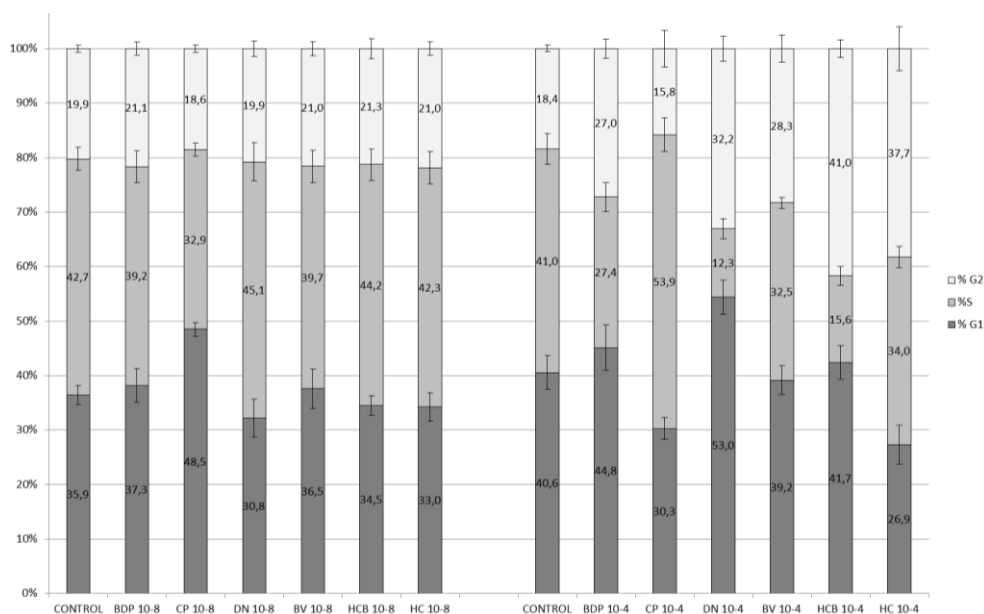


Figure 5: Effect on cell cycle distribution of low (10^{-8} M) and high (10^{-4} M) concentrations of six topical CS. BDP=betamethasone 17,21-dipropionate. CP=clobetasol 17-propionate. DN=desonide. BV=betamethasone 17-valerate. HCB=hydrocortisone 17-butyrate and HC=hydrocortisone base.

3.4 Résultats complémentaires

3.4.1 Mort cellulaire quantifiée par la phase sub-G1

La figure ci-après (Figure 59) illustre les données contenues dans les tables 1 et 2 de l'article. Cette représentation met plus facilement en évidence l'augmentation du nombre de cellules mortes (% sub-G1 élevé) à la concentration de 10^{-4} M (barres grises) par rapport à la concentration à 10^{-8} M (barres noires).

A la concentration de 10^{-4} M, le BDP induit de manière significative plus de mort cellulaire que les autres DC à la même concentration. Bien que les cinq autres DC aient induit une augmentation significative de la mort cellulaire, excepté pour le CP, aucune différence significative n'a été retrouvée entre eux.

A la concentration de 10^{-8} M, seulement le BV a induit une mort cellulaire significative.

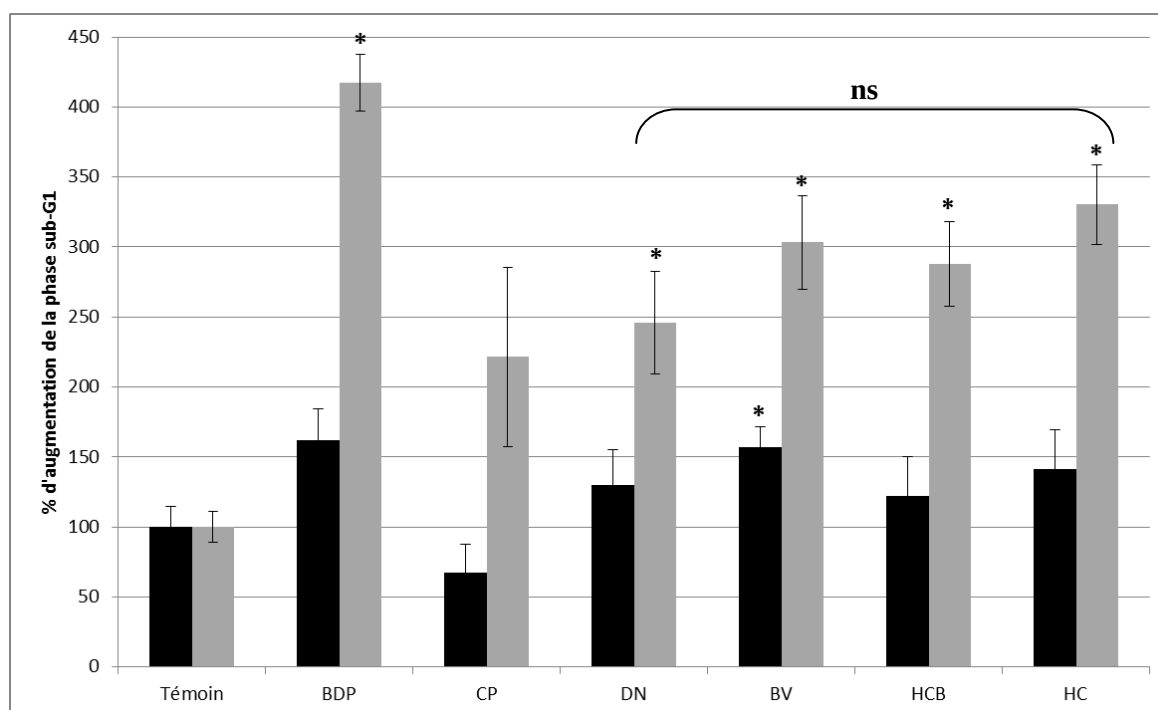


Figure 59 : Pourcentage d'augmentation de la phase sub-G1 par rapport au témoin pour chaque dermocorticoïdes aux concentrations 10^{-8} M (barres noires) et 10^{-4} M (barres grises).

BDP=betaméthasone 17,21-dipropionate, CP=clobetasol 17-propionate, DN=desonide, BV=betaméthasone 17-valérate, HCB=hydrocortisone 17-butyrate et HC=hydrocortisone base.

*** représente les différences significatives par rapport au témoin.**

ns= pas de différence significative entre les dermocorticoïdes.

3.4.2 Effet prolifératif de l'éthanol à faible concentration.

Lors de l'analyse des résultats de viabilité cellulaire par MTT, nous nous sommes aperçus qu'au bout de 72 h de culture, les densités optiques des puits contenant l'éthanol 100% à faibles concentrations (de 13,5 à 107 mM dans le milieu) étaient supérieures à celles des puits ne contenant que du milieu. Cette augmentation de la densité optique peut avoir deux explications : l'éthanol a des propriétés absorbantes à 570 nm ou le nombre de cellules dans le puits a augmenté. Nous avons écarté la première hypothèse après avoir placé de l'éthanol 100% seul dans une plaque de culture et avoir relevé une valeur de densité optique nulle. La deuxième hypothèse reste donc la plus probable et nous autorise à conclure que l'éthanol 100% à faible concentration a un effet prolifératif des HaCaT (Figure 60). A ce jour, cette propriété proliférative inattendue de l'éthanol sur les kératinocytes de type HaCaT a été démontrée par une seule équipe pour des concentrations de 2,14 à 171 mM (Figure 61) (152). A 107 mM nous avons observé une viabilité de 117% de même que Farkas *et coll.* pour leurs concentrations à 17,1 et 171 mM. Pour des concentrations plus élevées cette équipe retrouvait, comme nous, un effet inverse de l'éthanol, c'est-à-dire une cytotoxicité, avec des pourcentages de viabilité semblables (71%). Les HaCaT sont des kératinocytes hyperproliférants représentant un modèle *in vitro* proche du psoriasis admis par la communauté scientifique. C'est pourquoi l'équipe précédemment citée conclut que des exacerbations de lésions psoriasiques peuvent être provoquées par un excès de consommation d'alcool (152).

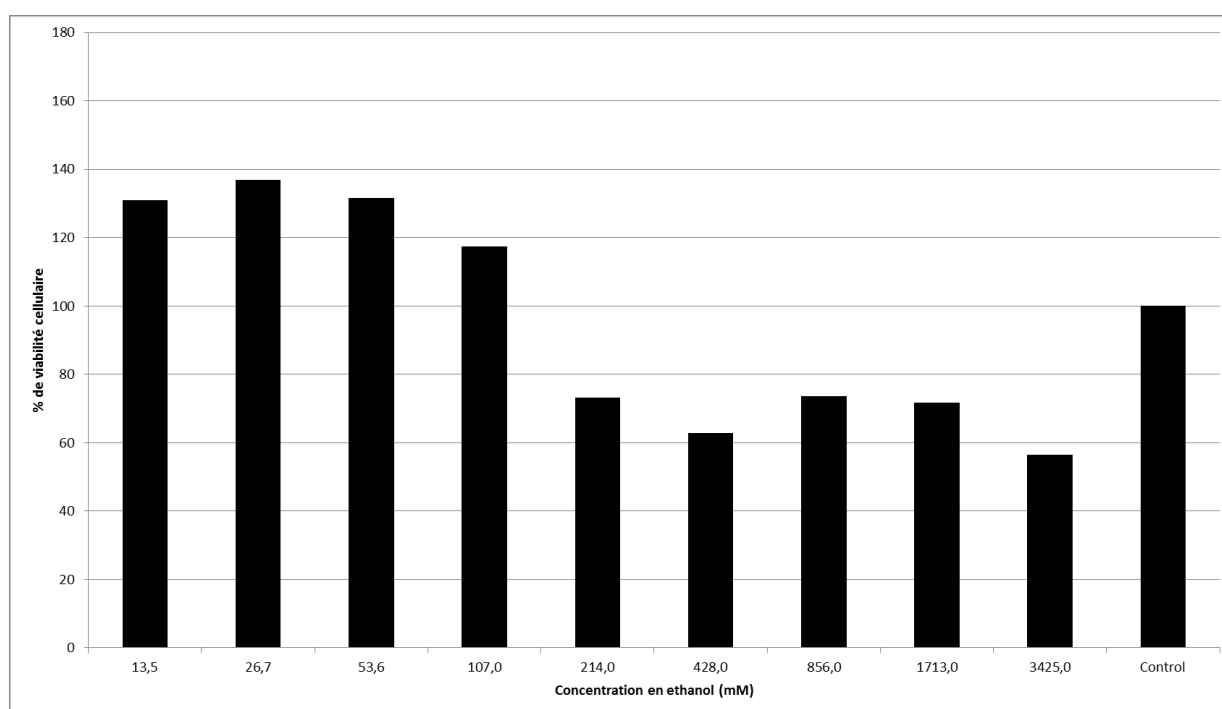


Figure 60 : Pourcentages de viabilité cellulaire, déterminé par test MTT, calculés par rapport au milieu de culture seul en guise de contrôle. HaCaT cultivés 72 h.

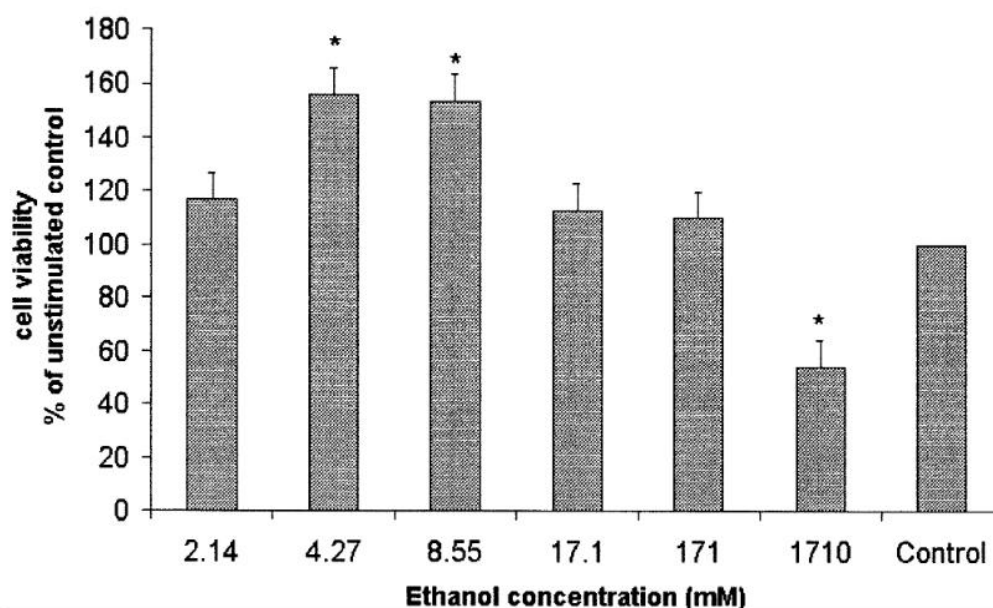


Figure 61 : Changements relatifs dans le nombre de cellules viables déterminés par le test de MTT après 72h de traitement par éthanol. * $p < 0,05$. D'après (152)

3.5 Conclusion

Notre étude *in vitro* a permis de démontrer que la classification actuelle de la puissance des DC, basée sur un test *in vivo* de blanchiment de la peau, n'est pas adaptée à l'évaluation de leur puissance antiproliférative. Cette série d'expérimentation a aussi permis de mettre au point deux protocoles expérimentaux permettant de comparer l'effet antiprolifératif de plusieurs DC (Annexes 3). On pourrait imaginer l'intégration de ce protocole lors du développement de nouvelles molécules par les industries pharmaceutiques. Cette méthode pourrait aussi être à la base de recommandations des autorités de santé pour la comparaison de l'efficacité de plusieurs DC sur cette activité spécifique antiproliférative.

En terme de perspective, il est envisageable d'utiliser des keratinocytes basaux de patients sains afin d'utiliser ce modèle expérimental pour comparer l'atrophie épidermique de différents DC et de confronter ces résultats à la classification actuelle.

Chapitre 4

*L'effet anti-histaminolibérateur des
dermocorticoïdes*

4.1 Synthèse de l'étude

4.1.1 Introduction

L'objectif de ce travail était d'évaluer les effets de DC sur le relargage d'histamine et de comparer leur puissance à la classification actuelle basée sur leurs propriétés vasoconstrictrices. Le choix du dosage de l'histamine est justifié de par son rôle majeur dans la réaction inflammatoire et dans le prurit. A partir d'explants de peau abdominale, nous avons étudié le relargage d'histamine, induite par injection d'anti-IgE, à l'aide de la technique de microdialyse cutanée *ex vivo*. Le modèle *ex vivo* sur explant de peau a été choisi car il est plus proche de la peau, *in vivo*, que la cellule de Franz pour laquelle l'hypoderme est retiré.

4.1.2 Matériel et méthodes

Huit DC ont été appliqués sur les explants durant 4 h sous occlusion à la verticale des sondes de microdialyse, introduites au niveau du derme. Les DC utilisés étaient : le betaméthasone dipropionate 0.05% micronisé (Diprosone®), le betaméthasone dipropionate 0,05% avec propylène glycol (Diprolene®), le desonide 0,05% (Tridesonit®), le desonide 0,1% (Locapred®), le betaméthasone valérate 0,1% (Betneval®), le difluocortolone valérate 0,1% (Nerisone®), l'hydrocortisone butyrate 0,1% (Locoid®) et le clobetasol propionate 0,05% (Dermoval®). Une injection d'anti-IgE a ensuite permis de déclencher la libération cutanée d'histamine. Le dosage de l'histamine a été réalisé à l'aide d'un marquage immuno-enzymatique à partir d'échantillons prélevés toutes les 5 min pendant 1 h.

4.1.3 Résultats et discussion

La comparaison des aires sous la courbe obtenues pour chaque DC a permis de les classer selon leur puissance inhibitrice de la libération d'histamine. D'après nos résultats, l'effet anti-histaminolibérateur n'est pas corrélé à l'effet vasoconstricteur pour tous les DC. En effet, le betaméthasone dipropionate 0,05% micronisé (Diprosone®), le betaméthasone dipropionate 0,05% avec propylène glycol (Diprolene®) et le betaméthasone valérate 0,1% (Betneval®) exprimaient une faible puissance inhibitrice de la libération d'histamine alors qu'ils sont considérés comme très puissants selon leur effet vasoconstricteur. A l'inverse, le difluocortolone valérate 0,1% (Nerisone®) inhibait fortement la libération d'histamine. Ainsi notre classification de la puissance anti-inflammatoire des DC basée sur leur effet anti-histaminolibérateur est différente de celle basée sur leur effet vasoconstricteur et semble plus adaptée.

4.1.4 Conclusion

<u>La classification actuelle</u> basée sur l'effet vasoconstricteur :	Dermoval® = Diprolene® > Diprosone® = Betneval® = Nerisone® > Tridesonit® = Locapred® = Locoid®
<u>Notre classification</u> Basée sur l'effet anti- histaminolibérateur :	Dermoval® > Nerisone® > Diprolene® = Betneval® = Locapred® = Locoid® > Diprosone® = Tridesonit®

Notre classification diffère de la classification actuelle et semble plus adaptée au traitement du prurit ou des dermatoses inflammatoires histamino-dépendante.

Ce travail a fait l'objet d'une publication en 2013 dans le journal « *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications* ». Dans l'article, introduit ci-après, figurent le descriptif du matériel et des méthodes utilisés et, les résultats détaillés que nous avons obtenus.

present in the skin can cross the membrane and enter the lumen probe in proportion to a concentration gradient [7]. Leveque *et al.* compared Franz cells and microdialysis for the skin absorption of salicylic acid and showed that the permeation profiles of salicylic acid determined by the both methods were similar [8]. MD can follow the evolution of dermis concentrations of endogenous components as well as exogenous components over a period of time. Topical corticosteroids are commonly used in the treatment of immuno-allergic conditions. We decided to carry out an experiment in order to measure directly the ability of topical corticosteroids to inhibit histamine release in an original *ex-vitro* model using cutaneous microdialysis because the integrity of skin barrier function is maintained. We compared the McKenzie classification of corticosteroids to this new classification according to their effect on histamine release. Indeed mast cells are well known to play a central role in the formation of allergic inflammation and contribute to the pathogenesis of allergic diseases, including atopic dermatitis and psoriasis. So histamine plays a pivotal role in the pathogenesis of allergic inflammation. It is known that the dermis of psoriatic plaques contains an increased number of mast cells [9]. Krogstad *et al.* reported that histamine concentration and release are increased in lesional skin of psoriatic patients [10]. Indeed mast cells reside in all vascularized tissues and particularly high mast cell numbers can be found at the interfaces of host and environment, such as the skin. Release of histamine and “slow reacting substance of anaphylaxis” from mast cells following crosslinking of cell-bound IgE by allergen was demonstrated in 1985 by Ishizaka *et al.* [11]. Our study is based on experiments performed by Petersen *et al.* who induced histamine release from resident dermal mast cells of excised female abdominal skin with an intradermal injection of a solution of anti-IgE with a maximum peak around 15 minutes of microdialysis [12]. Thus it is possible to calculate the area under the curve for the release of histamine and to use this data to classify the corticosteroids in accordance with their effects on histamine release.

2. Materials and Methods

Products

Eight corticosteroids creams were obtained from pharmacy:

- micronized betamethasone dipropionate 0.05% (Diprosone®) (0.05% mBD)
- betamethasone dipropionate 0.05% with propylene glycol (Diprolene®) (BdD + PG 0.05%)
- desonide 0.05% (Tridesonit®) (DES 0.05%)
- desonide 0.1% (Locapred®) (DES 0.1%)
- betamethasone valerate 0.1% (Betneval®) (BV 0.1%)

- diflucortolone valerate 0.1% (Nerisone®) (DF 0.1%)
- hydrocortisone butyrate 0.1% (Locoid®) (HB 0.1%)
- clobetasol propionate 0.05% (Dermoval®) (CP 0.05%)

Anti-IgE solution was purchased from Dako (France). Histamine EIA kits were obtained from Beckman Coulter (Paris, France).

Skin specimens

For these experiments, 16 excised abdominal skin (operative wastes) were obtained from surgery procedure and were used as soon as possible after their excision (mean age of women: 41.0 ± 2.3 years). The allergic status of the donors was not known. Informed consent was obtained from each subject before surgery. Skin fragments were cut and placed immediately in phosphate buffer (PBS, PAA laboratories, France) and the temperature of 37°C of phosphate buffer was maintained during the experiments. The cutting of skin fragments makes it possible to repeat the measurements of histamine release twelve times for each corticosteroid after the application of the cream.

Microdialysis Experiment

The microdialysis system consisted of a CMA/100® syringe pump (Phymed, Paris, France) and CMA/140 microfraction collector, which collected samples. The microdialysis probes (CMA/20®) had a 20-kD cutoff with a polycarbonate membrane (length 10 mm. For each corticosteroid, a total of 12 microdialysis probes were used to determine their potency on the inhibition of histamine release after anti-IgE antibody injection. So each skin fragment was cut into several parts. Histamine release was induced after 1 hour of stabilization following the cutting of the skin and the insertion of microdialysis probes.

Microdialysis samples were collected 5 minutes before the induction of histamine liberation (T0) and the microdialysis lasted 1 hour with sampling of extracellular dermal fluid every 5 minutes. Probes were used in order to determine basal histamine release after anti-IgE injection.

The corticosteroids tested were topically applied with occlusive dressing (Tegaderm™, 3M, France) on the skin above each probe, four hours before anti-IgE injection. Microdialysis started 5 minutes before the histamine released and lasted 1 hour with sampling every 5 minutes (Figure 1).

Determination of histamine in dialysates

The concentration of histamine in the dialysate was determined by EIA using a commercially available analytic kit for histamine. In order to compare the different corticosteroids, AUC (area under the curve) was calculated allowing an estimation of the amount of released histamine during the period of 60 min of microdialysis on excised skins. For each skin fragment, the kinetic

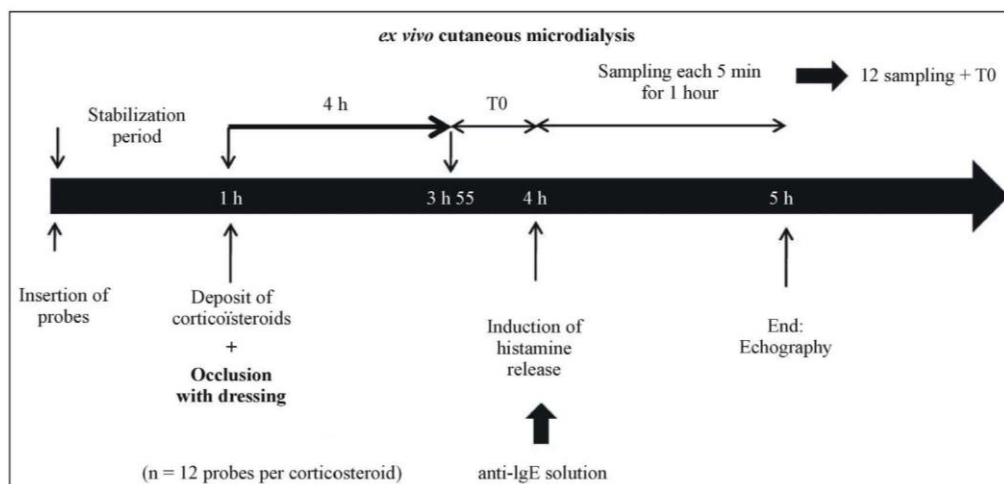


Figure 1. Schematic representation of experimental protocol of histamine-induced model.

curve of histamine release without the presence of corticosteroids (control) was plotted. After 20 minutes, the release of histamine reached a maximum and was considered as 100%. The percentage of histamine was calculated for each time in each curve with and without corticosteroids.

For each curve, area under the curve was calculated using GraphPAD Prism software. The results were expressed as the percentage in comparison to AUC of control curve

3. Statistics

Results are expressed as means $\pm$ SEM. Statistical analyses were performed by using one way or two ways variance analysis followed if necessary by Fischer test. Values were considered significantly different when $p < 0.05$.

4. Results

Twelve skin fragments were used in order to test each corticosteroid cream on the histamine release. The histamine release induced by anti-IgE antibody was recorded after a stabilization period following the cutting of excised female abdominal skin and the insertion of the probe. This stabilization period makes it possible to determine the basal quantity of histamine present in skin fragments. Histamine concentrations increased and a plateau was obtained 20 minutes after anti-IgE induction. Thus it is possible to calculate the area under the curve for the release of histamine. The second part of the experiment consisted of applying the different corticosteroids creams 4 hours before the induction of histamine release. The results demonstrated that the plateau was lower than the control after the induction of histamine

release in the presence of corticosteroids such as clobetasol propionate (CP 0.05%) (Figure 2). During the 60 minutes of the experiment, histamine dermal levels decreased in the presence of each corticosteroid and made it possible to calculate Area Under the Curve (AUC) for each corticosteroid. The area under the plot of dermal concentration of histamine against time after corticosteroid administration is used in the estimation of the bioavailability of histamine in the dermis showing the effects of corticosteroids in the treatment of immuno-allergic diseases. The classification of corticosteroids according to the value of AUC showed that micronized betamethasone dipropionate (mBdP 0.05%), betamethasone dipropionate with propylene glycol (BdP + PG 0.05%) or desonide, (DES 0.05%) were less powerful than in McKenzie classification (Figure 3 and Table 1). Difluocortolone (DF 0.1%) showed to have the more potent effect after clobetasol propionate (CP 0.5%) on histamine release.

5. Discussion

An allergy is an overreaction of the immune system following contact with a substance usually foreign to the body. Mast cells play a key role in the immediate phase of allergic reactions and also in the inflammatory process. When activated by direct contact, by cross-linking of IgE receptors, or by activated complement proteins, a mast cell rapidly releases numerous chemical mediators such as serotonin, histamine, tryptase or heparin by a mechanism of exocytosis. Mast cells express a high-affinity receptor for the Fc region of IgE. This receptor is of such high affinity that binding of IgE molecules is essentially irreversible. As a result, mast cells are coated with IgE. IgE molecules are produced by plasma cells and are specific to one particular antigen. Petersen *et al.* deve-

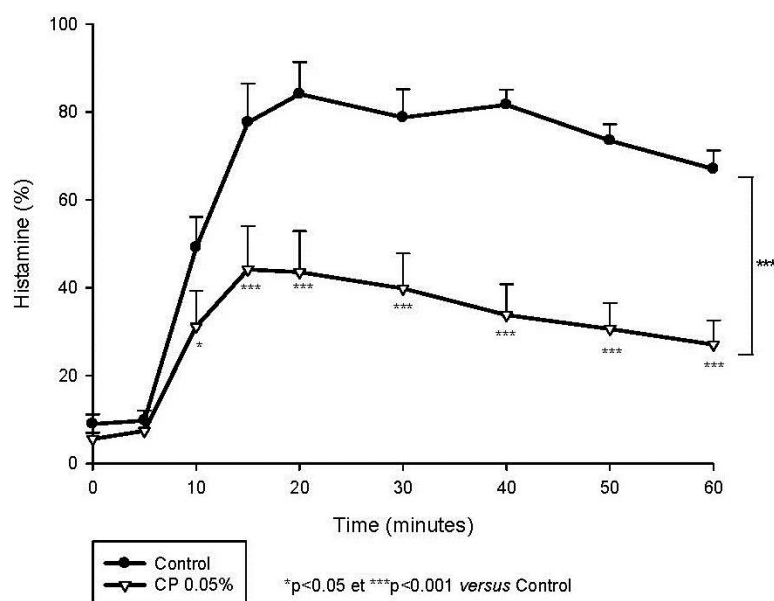


Figure 2. Skin release of histamine after anti-IgE injection in the presence or not of PC 0.05%). propionate clobetasol 0.05% (Sampling intervals were 5 min. Histamine concentrations in dialysates are shown over 60 min. *p < 0.05 and ***p < 0.001 versus control.

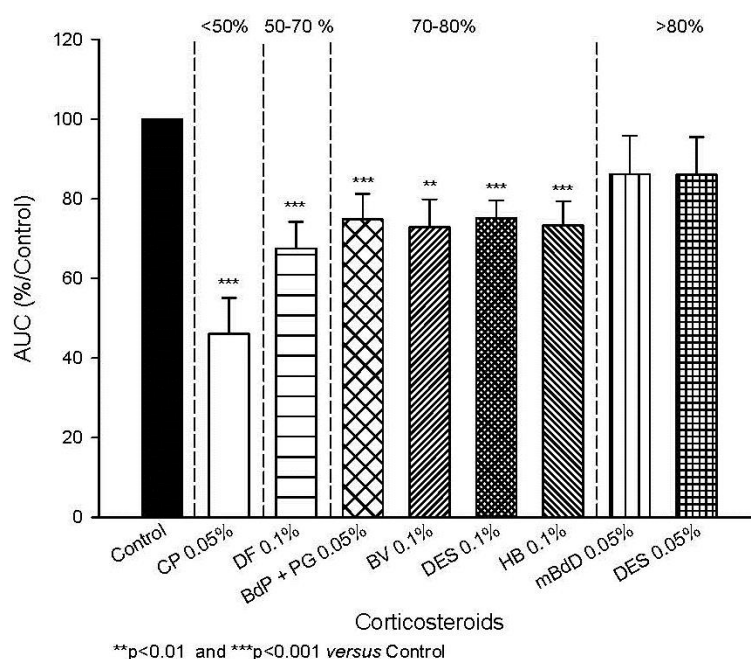


Figure 3. Classification of corticosteroids using the estimation of the amount of released histamine (AUC) during the period of 60 min of microdialysis on excised skins in the presence of corticosteroids. **p < 0.01 and ***p < 0.001 versus control.

developed a microdialysis technique allowing the measurement of histamine release from intact human skin mast cells *ex vivo* [12] using intradermal injection of anti-IgE. The kinetics of histamine release in the skin *ex vivo* by

anti-IgE showed a maximum peak around 15 minutes of microdialysis comparable to that obtained in the present study. So this microdialysis technique made it possible to test the potency of several topical corticosteroids on *ex*

Table 1. Potency of topical corticosteroids. Comparison between MacKenzie classification and the new classification using histamine-induced model

Potency Mackenzie classification	Topical corticosteroid	Formulation	French trade name	Potency Inhibition of histamine release
Ultra high	Clobetasol propionate (CP 0.05%)	Cream, 0.05%	Dermoval®	Ultra high
High	Micronized betamethasone dipropionate (mBdD 0.05%)	Cream, 0.05%	Diprosone®	Low
Ultra High	Betamethasone dipropionate with propylene glycol (BdD + PG 0.05%)	Cream, 0.05%	Diprolene®	Moderate
High	Betamethasone valerate (BV 0.1%)	Cream, 0.1%	Betneval®	Moderate
High	Diflucortolone (DF 0.1%)	Cream, 0.1%	Nerisone®	High
Moderate	Desonide (DES 0.1%)	Cream, 0.1%	Locapred®	Moderate
Moderate	Desonide (DES 0.05%)	Cream, 0.05%	Tridesonit®	Low
Moderate	Hydrocortisone butyrate (HB 0.1%)	Cream, 0.1%	Locoid®	Moderate

vivo model of histamine release. Indeed topical corticosteroid application to the skin is a standard therapy in immuno-allergic diseases. Up till the present moment, it was thought that the effectiveness of topical corticosteroids results especially in a vasoconstriction of superficial dermis and a decrease in capillary permeability, which results in the rapid reduction of edema and erythema. The degree of vasoconstriction seems to be related to the potency and the absorption of the topically applied steroid and has been used in the McKenzie vasoconstrictor assay [1].

This assay, introduced by McKenzie and Stoughton [1], involves the evaluation of the degree of skin blanching over a period following the application of topical corticosteroid products to the skin of healthy human subjects. It can be carried out by visual assessment of the degree of blanching at the application site or by an instrumental method of assessment using a chromameter. The intensity of the skin blanching response is related to the amount of corticosteroid that has penetrated into the skin [13]. Various publications have shown that the precision, sensitivity and repeatability of this assay are adequate for the assessment of the bioequivalence of topical corticosteroid formulations [14-19]. The degree of hydration of the horny layer of epidermis affects its permeability for corticosteroids and their transport through the skin. Occlusion increases the permeability of the skin for corticosteroids, resulting in an increased degree of skin hydration [20]. There is also a relationship between the vehicle composition of corticosteroids and the skin blanching. Indeed the release of corticosteroids from creams depends on the composition of the vehicle and can contribute to the blanching. Propylene glycol associated with betamethasone dipropionate (Diprolene®) increases the solubilization of its molecule and improves the blanching compared to the formulation without propylene glycol (Diprosone®). So the skin blanching was

used as a measure of the percutaneous absorption of corticosteroids from topical formulations. Up to now, human skin blanching is used to evaluate the efficacy of topical corticosteroids prior to their final testing during clinical trials.

However there is no direct proof that the vasoconstrictor and anti-inflammatory activities are correlated. Since topical corticosteroids are commonly used in the treatment of immuno-allergic conditions, we firstly carried out in the present study, an experiment in order to measure directly the ability of topical corticosteroids to inhibit histamine release in an original *ex-vitro* model which allowed studies of the bioequivalence of topical corticosteroids formulations without the presence of blood flow. Secondly we compared the McKenzie classification of corticosteroids to this new classification according their effect on histamine release from resident dermal mast cells. This original model consists in an *ex vivo* skin treated by injection of anti-IgE antibody because mast cells also reside in the skin. The results showed that topical corticosteroids inhibited directly the release of histamine in addition to vasoconstriction properties. A pretreatment of the skin by corticosteroids for 4 hours with occlusive dressing made it possible to decrease the dermal histamine levels. So McKenzie classification of corticosteroids is not correlated to their potency of inhibition on histamine release. Micronized betamethasone dipropionate (mBdP 0.05%), betamethasone dipropionate with propylene glycol (BdP + PG 0.05%) or desonide, (DES 0.05%) were less powerful than in McKenzie classification. Our model also showed that the presence of propylene glycol induced an increase in the activity of betamethasone on histamine release. It is noteworthy that difluocortolone (DF 0.1%) showed to have a more potent effect after clobetasol propionate (CP 0.5%) on histamine release.

6. Conclusion

In conclusion, we did not find the same results concern-

ing the potency of corticosteroids according to MacKenzie classification and the inhibition of histamine release. These results show us that a new classification of the potency of corticosteroids should be established to treat correctly the patients according to the origin of the observed disturbances. These results invite us to consider the power of topical corticosteroids differently depending on their target action (anti-allergic, anti-inflammatory ...). New *ex vivo* models should be developed in order to observe the direct effects of corticosteroids on the release of inflammatory mediators. The method, we have developed, should lead to the study of clinical disease models for immuno-allergic clinical validation.

REFERENCES

- [1] A. W. MacKenzie and R. B. Stoughton, "A Method for Comparing Percutaneous Absorption of Steroids," *Archives of Dermatology*, Vol. 86, No. 11, 1962, pp. 608-610. [doi:10.1001/archderm.1962.01590110044005](https://doi.org/10.1001/archderm.1962.01590110044005)
- [2] A. W. McKenzie, "Percutaneous Absorption of Steroids," *Archives of Dermatology*, Vol. 86, No. 11, 1962, pp. 611-614. [doi:10.1001/archderm.1962.01590110047006](https://doi.org/10.1001/archderm.1962.01590110047006)
- [3] S. Wiedersberg, C. S. Leopold and R. H. Guy, "Bioavailability and Bioequivalence of Topical Glucocorticoids," *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, Vol. 68, No. 3, 2008, pp. 453-466. [doi:10.1016/j.ejpb.2007.08.007](https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2007.08.007)
- [4] Y. Narkar, "Bioequivalence for Topical Products—An Update," *Pharmaceutical Research*, Vol. 27, No. 12, 2010, pp. 2590-2601. [doi:10.1007/s11095-010-0250-3](https://doi.org/10.1007/s11095-010-0250-3)
- [5] Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), "Test Guideline 427: *In Vitro* Method," Paris, 2004.
- [6] T. J. Franz, P. A. Lehman and S. G. Raney, "Use of Excised Human Skin to Assess the Bioequivalence of Topical Products," *Skin Pharmacology and Physiology*, Vol. 22, No. 5, 2009, pp. 276-286. [doi:10.1159/000235828](https://doi.org/10.1159/000235828)
- [7] A. Le Quellec, S. Dupin, P. Genissel, S. Saivin, B. Marchand and J. P. M. Houin, "Microdialysis Probes Calibration: Gradient and Tissue Dependent Changes in No Flux and Reverse Dialysis Methods," *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, Vol. 33, No. 1, 1995, pp. 11-16. [doi:10.1016/1056-8719\(94\)00049-A](https://doi.org/10.1016/1056-8719(94)00049-A)
- [8] N. Leveque, S. Makki, J. Hadgraft and P. Humbert, "Comparison of Franz Cells and Microdialysis for Assessing Salicylic Penetration through Human Skin," *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 269, No. 2, 2004, pp. 323-328. [doi:10.1016/j.ijpharm.2003.09.012](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2003.09.012)
- [9] I. Brody, "Mast Cell Degranulation in the Evolution of Acute Eruptive Guttate Psoriasis Vulgaris," *Journal of Investigative Dermatology*, Vol. 82, No. 5, 1984, pp. 460-464. [doi:10.1111/1523-1747.ep12260955](https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12260955)
- [10] A. L. Krogstad, G. Lonnroth, B. F. G. Larson and B. G. Wallin, "Nerve-Induced Histamine Release Is of Little Importance in Psoriatic Skin," *British Journal of Dermatology*, Vol. 139, No. 5, 1998, pp. 403-409. [doi:10.1046/j.1365-2133.1998.02402.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2133.1998.02402.x)
- [11] T. Ishizaka, D. H. Conrad, T. F. Huff, D. D. Metcalfe, R. L. Stevens and R. A. Lewis, "Unique Features of Human Basophilic Granulocytes Developed in *in Vitro* Culture," *International Archives of Allergy and Applied Immunology*, Vol. 77, No. 1-2, 1985, pp. 137-143. [doi:10.1159/000233768](https://doi.org/10.1159/000233768)
- [12] L. J. Petersen, K. Brasso, M. Pryds and P. S. Skov, "Histamine Release in Intact Human Skin by Monocyte Chemoattractant Factor-1, RANTES, Macrophage Inflammatory Protein-1 Alpha, Stem Cell Factor, Anti-IgE, and Codeine as Determined by an *ex Vivo* Skin Microdialysis Technique," *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, Vol. 98, No. 4, 1996, pp. 790-796. [doi:10.1016/S0091-6749\(96\)70128-8](https://doi.org/10.1016/S0091-6749(96)70128-8)
- [13] L. K. Pershing, B. S. Silver, G. G. Krueger, V. P. Shah and J. P. Skelly, "Feasibility of Measuring the Bioavailability of Topical Betamethasone Dipropionate in Commercial Formulations Using Drug Content in Skin and a Blanching Bioassay," *Pharmaceutical Research*, Vol. 9, No. 1, 1992, pp. 45-51. [doi:10.1023/A:1018975626210](https://doi.org/10.1023/A:1018975626210)
- [14] B. W. Barry and R. Woodford, "Activity and Bioavailability of Topical Corticosteroids: *In Vivo/In Vitro* Correlations for the Vasoconstrictor Test," *Journal of Clinical Pharmacology*, Vol. 3, No. 1, 1978, pp. 43-65.
- [15] K. H. Burdick, "Corticosteroid Bioavailability Assays: Correlation with a Clinical Study," *Acta Dermato-Venereologica: Supplement (Stockholm)*, Vol. 52, No. 67, 1971, pp. 19-23.
- [16] B. W. Barry, "Bioavailability of Topical Steroids," *Dermatologica*, Vol. 152, Suppl. 1, 1976, pp. 47-65. [doi:10.1159/000257866](https://doi.org/10.1159/000257866)
- [17] G. L. Coleman, I. Kanfer and J. M. Haigh, "Comparative Blanching Activities of Proprietary Diflucortolone Valerate Topical Preparations," *Dermatology*, Vol. 156, No. 4, 1978, pp. 224-230. [doi:10.1159/000250920](https://doi.org/10.1159/000250920)
- [18] E. Meyer, A. D. Magnus, J. M. Haigh and I. Kanfer, "Comparison of the Blanching Activities of Dermovate, Betnovate and Eumovate Creams and Ointments," *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 41, No. 1, 1988, pp. 63-66. [doi:10.1016/0378-5173\(88\)90136-6](https://doi.org/10.1016/0378-5173(88)90136-6)
- [19] E. W. Smith, E. Meyer, J. M. Haigh and H. I. Maibach, "The Human Skin Blanching Assay as an Indicator of Topical Corticosteroid Bioavailability and Potency: An Update," In: R. L. Bronaugh and H. I. Maibach, Eds., *Percutaneous Absorption: Mechanisms, Methodology and Drug Delivery*, 2nd Edition, Marcel Dekker, Inc., New York, 1989, pp. 443-460.
- [20] J. M. Haigh and L. Kanfer, "Assessment of Topical Corticosteroid Preparations: The Human Skin Blanching Assay," *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 19, No. 3, 1984, pp. 245-262. [doi:10.1016/0378-5173\(84\)90055-3](https://doi.org/10.1016/0378-5173(84)90055-3)

4.3 *Résultats complémentaires*

Lors de la mise au point du protocole, la question de l'application des traitements avec ou sans occlusion s'est posée. En effet, en pratique clinique les deux méthodes sont possibles en fonction des pathologies à traiter et de leur localisation. Afin d'évaluer l'influence de l'occlusion sur la pénétration des crèmes et sur leur effet anti-histaminolibérateur, des séries d'expérimentations avec ou sans occlusion ont été réalisées. La méthodologie décrite dans l'article a été respectée dans les deux cas. La Figure 62 présente la quantité d'histamine libérée pour différents DC appliqués, sans occlusion, sur des explants de peau, comparés à un site témoin non traité.

Aucune différence significative n'a été retrouvée entre les DC et les sites témoins suggérant l'absence d'effet des DC sur l'histamino-libération induite lorsqu'ils sont appliqués sans occlusion. En effet, il a été démontré que la pénétration transcutanée, et de ce fait les effets pharmacologiques, pouvait être augmentée jusqu'à 10 fois lorsque les DC étaient appliqués sous occlusion (17).

Afin de pouvoir discriminer au mieux les DC sur leur effet anti-histaminolibérateur, la mise sous occlusion pendant 4 h a donc été privilégiée pour la suite des expérimentations décrites dans l'article.

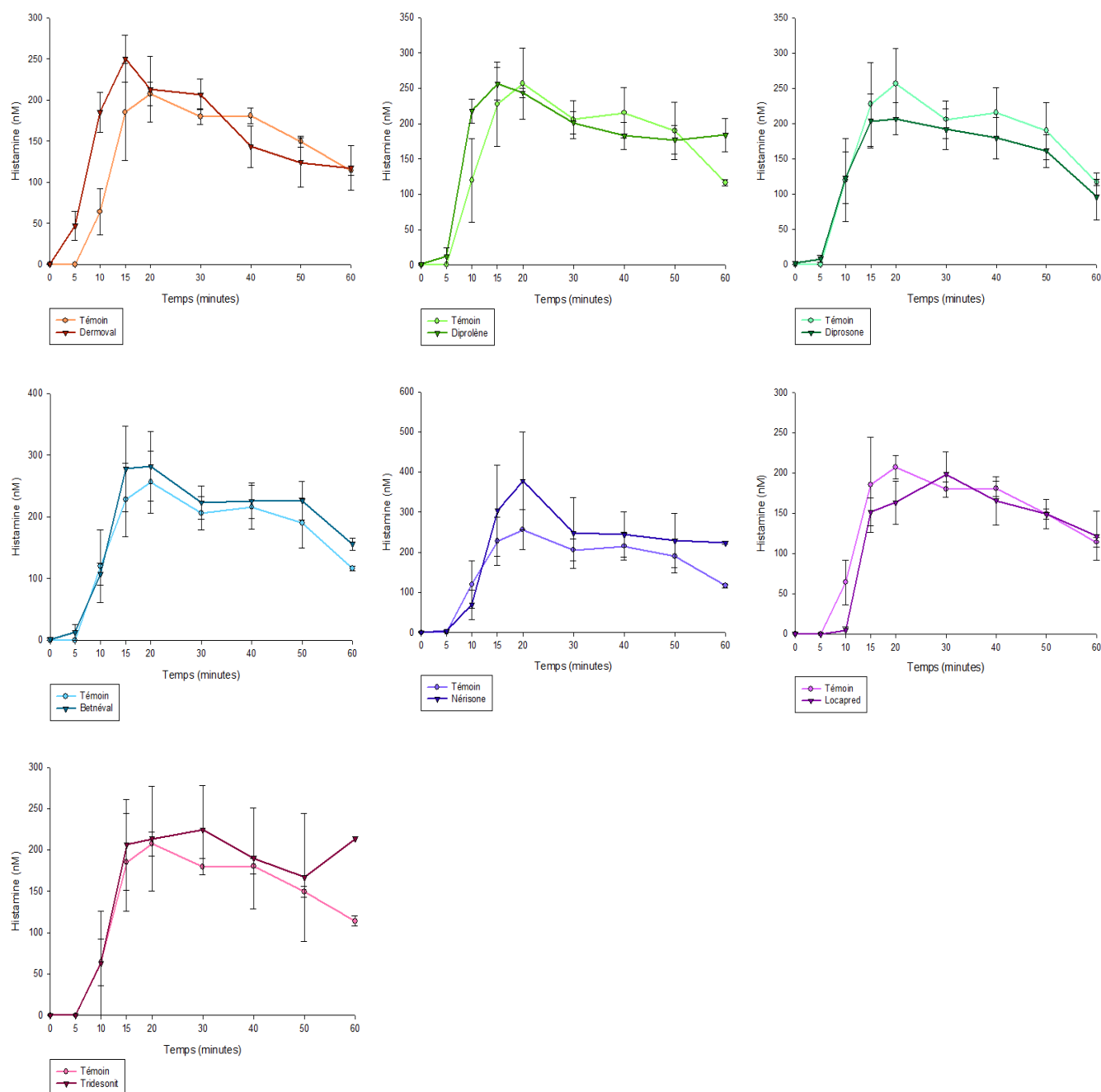


Figure 62 : Relargage cutané d'histamine libérée après injection d'anti-IgE en présence ou non d'un DC sans occlusion. Prélèvements réalisés par microdialyse *ex-vivo* toutes les 5 min pendant 60 min. Les DC employés pour cette expérimentation étaient le clobetasol propionate 0,05% (Dermoval®), le betaméthasone dipropionate 0,05% avec propylène glycol (Diprolène®), le betaméthasone dipropionate 0,05% micronisé (Diprosone®), le betaméthasone valérate 0,1% (Betnéval®), le diflucortolone valérate 0,1% (Nerisone®), le desonide 0,1% (Locapred®) et le desonide 0,05% (Tridesonit®).

Discussion Générale

-

Perspectives

Les dermocorticoïdes (DC) largement utilisés dans le traitement de dermatoses diverses doivent faire l'objet d'une prescription adaptée ; cela afin d'éviter les effets indésirables d'une part et les échecs thérapeutiques d'autre part. La classification actuelle de la puissance des DC, basée sur leur seul effet vasoconstricteur restreint grandement leurs divers effets pharmacologiques. Outre l'intérêt médical et de santé publique, la réévaluation de la classification peut avoir un intérêt économique non négligeable, le marché des DC représentant entre 40 et 50 millions d'euros par an. Une prescription plus efficiente évite les échappements thérapeutiques, les rechutes, les rebonds de la pathologie, les dépendances aux traitements et les hospitalisations ou prise en charge médicale de la iatrogénie, à l'origine d'une augmentation des coûts.

L'objectif de ces travaux était de comparer la puissance de différents DC à l'aide de méthodes adaptées puis de confronter nos résultats à la classification actuelle de la puissance des DC. A travers trois axes d'étude complémentaires nous avons pu comparer plusieurs DC sur leurs principaux effets que sont l'effet anti-inflammatoire dans un contexte d'allergie de contact, l'effet antiprolifératif et l'effet antiprurigineux. Sur ces trois indications majeures nos évaluations divergeaient par rapport aux résultats attendus par le test de vasoconstriction. Bien que certains résultats de nos expérimentations objectives, comme la colorimétrie ou le laser doppler, étaient corrélés à ce test, il ne représente, au mieux, qu'une approximation de l'effet clinique.

De plus, la hiérarchisation relative de la puissance des DC variaient en fonction de la cible (histamine, prolifération kératinocytaire, vasodilatation, érythème, œdème...) rendant impossible l'établissement d'une classification unique de tous les effets des DC. C'est pourquoi, notre approche pour une nouvelle classification serait de simplifier le nombre de classes, entre lesquelles il est parfois difficile d'observer une différence significative, et de créer plusieurs classifications adaptées aux objectifs thérapeutiques. On pourrait ainsi imaginer un DC avec quatre ou cinq classements correspondant aux différentes indications comme l'effet anti-inflammatoire, immunosuppresseur, antiprurigineux, antiallergique... Cette nouvelle approche implique la mise en place d'études objectives comparant l'efficacité des différents DC existants sur chacune de ces indications spécifiques.

Néanmoins, le prescripteur doit garder à l'esprit que lors de la prescription d'un DC, l'efficacité n'est pas le seul critère de sélection et que la forme galénique, la localisation, l'âge et le statut allergique du patient sont des paramètres à prendre en compte. Une classification de la puissance des DC plus fine et plus adaptée à la clinique permettrait de limiter l'échappement thérapeutique et la survenue d'effets indésirables. De plus, la prescription d'un DC adapté aux symptômes limitera la corticophobie et les récives des lésions encore trop souvent observées du fait d'un traitement inadapté.

Annexes



« Dermocorticophobie »

Claire Baraquin

UFR des Sciences Médicales & Pharmaceutiques de Besançon

5^{ème} année hospitalo-universitaire 2011-2012

Service de Dermatologie

Janvier à Mars 2012

Remerciements

Je remercie le Professeur Philippe Humbert pour son accueil dans le service de dermatologie du CHRU de Besançon et pour ses enseignements prodigués lors de ses consultations ou des réunions.

J'adresse également mes sincères remerciements aux équipes soignantes, quel que soit leur niveau : professeurs, docteurs, internes, infirmières et aussi externes (en médecine et surtout en pharmacie !), pour leur accueil dans les différentes unités, leurs explications et leur sympathie au quotidien.

Je termine avec un merci particulier à Alexandre Guichard, interne en pharmacie, qui a encadré ce mémoire, pour ses nombreux conseils et sa relecture attentive.

Table des matières

<i>Liste des tableaux</i>	3
<i>Introduction</i>	4
<i>1. La « dermocorticophobie »</i>	4
1.1. Généralités : définition et prévalence	4
1.2. D'où vient la corticophobie des patients ?	5
1.3. Comment lutter contre la corticophobie ?	10
<i>2. Cas clinique</i>	11
<i>Conclusion</i>	14
<i>Bibliographie</i>	16
<i>Annexes</i>	17

Introduction

Les dermocorticoïdes, ou corticostéroïdes à usage cutané, sont apparus dans les années 1950 et ont modifié la prise en charge des affections dermatologiques. Depuis l'hydrocortisone, la première molécule utilisée, de nombreuses modifications structurales ont permis l'obtention de principes actifs d'efficacité croissante et aux effets indésirables amoindris. Ils sont aujourd'hui classés en quatre niveaux, en fonction de leur puissance d'activité.

Malgré l'efficacité de ces médicaments, il existe des échappements thérapeutiques. L'évolution de la maladie n'est pas toujours en cause ; en effet, l'échec thérapeutique est souvent dû à une mauvaise observance, liée en particulier à un phénomène nommé la « dermocorticophobie », qui va être dans un premier temps défini et quantifié. Ensuite, les aspects qu'il regroupe et leurs origines seront exposés avant de présenter quelques moyens probables de prévention. Enfin, un cas clinique illustrera ces propos.

1. La « dermocorticophobie »

1.1. Généralités : définition et prévalence

La corticophobie, ou plus précisément la dermocorticophobie, est un terme employé sans définition précise dans la littérature. La plus répandue correspond à la crainte, rationnelle ou non, d'utiliser les corticoïdes locaux, et pouvant avoir un impact négatif sur l'adhésion thérapeutique ; elle doit être différenciée d'une phobie au sens psychiatrique, soit une peur sans objet [Wastiaux-Aubert H, 2009 ; Germain-Jadeau L, 2010]. Historiquement, cette notion provient de craintes erronées de la part de certains médecins à l'égard des corticoïdes dans le traitement de l'asthme.

Pour n'en citer qu'une, Charman CR *et al.*, 2003 rapporte brièvement une étude réalisée en Angleterre sur 200 patients aux antécédents d'atopie, qui avait pour objectif de rechercher la corticophobie au moyen de trois questions :

- avez-vous des inquiétudes sur l'utilisation des dermocorticoïdes ?
- si oui, pourquoi ?
- cela a-t-il eu un impact sur l'observance ?

D'après ses résultats, 70% des adultes atteints de dermatite atopique et 73,2% des parents d'enfants atopiques ont des craintes au sujet des dermocorticoïdes et le tiers d'entre eux admet avoir été non observant suite à ces craintes.

Sans toujours citer explicitement le terme de corticophobie, d'autres études rapportent aussi que les corticoïdes en usage local sont une source d'inquiétude, devraient être réservés aux cas sévères ou sont jugés trop dangereux pour leurs enfants pour environ une personne concernée sur deux, c'est-à-dire atopique elle-même ou parent d'enfant atopique. Il a été noté que les patients « corticophobes » se traitaient tardivement et durant une période la plus courte possible [Wastiaux-Aubert H, 2009].

De plus, Aubert H *et al.*, 2012 ont remarqué que plus l'enfant était jeune, plus les parents étaient corticophobes, cependant aucune corrélation significative avec la sévérité ou l'ancienneté de la dermatite atopique n'a été démontrée par les auteurs.

1.2. D'où vient la corticophobie des patients ?

Dans un premier temps, le terme corticophobie sera détaillé, ainsi que les différentes craintes que cette notion englobe. Dans une seconde partie, l'origine de ces craintes sera présentée.

1.2.A. Que regroupe le terme dermocorticophobie ?

L'intensité de la corticophobie est variable selon les patients, à type de craintes modérées voire de phobie majeure pour d'autres. Pour l'appréhender, une approche qualitative de recueil d'informations a été utilisée par Wastiaux-Aubert H, 2009 : il s'agit des groupes focalisés qui sont des groupes de discussion semi-structurés, et modérés par un animateur neutre. Ils ne sont pas exploitables statistiquement puisque non représentatifs de la population générale mais permettant uniquement une appréhension large des ressentis des patients. Ce sont majoritairement ces résultats, appuyés par d'autres données de la littérature, qui vont être décrits.

Les patients redoutent les effets secondaires des dermocorticoïdes [Aubert H *et al.*, 2012 ; Charman CR *et al.*, 2003] : ceux-ci sont certes réels mais surestimés (Tableau I). Ce sont surtout l'atrophie cutanée, la dépigmentation et la surinfection dont les prévalences ont été majoritairement évaluées, par Furue M *et al.*, 2002 sur 1271 patients (Tableau II). Ces recherches censées observer le effets secondaires des dermocorticoïdes sont à interpréter avec prudence : beaucoup d'entre elles ne sont pas contrôlées. Cette tendance est retrouvée par Fukaya M, 2000 dont les patients réticents à ces traitements locaux ont déjà expérimenté un effet indésirable.

Il y avait également une crainte d'effets secondaires systémiques, par analogie avec la cortisone per os, ou encore indéterminés et imprévisibles à long terme car liés au savoir relatif scientifique à l'heure actuelle et à son évolution.

Tableau I : Pourquoi est-ce que les patients ont peur d'utiliser les dermocorticoïdes ? [d'après Charman CR *et al.*, 2003]

Raisons à la corticophobie	% de patients (n = 200)
Atrophie cutanée	34,5
Effets non spécifiques à long terme	24,0
Effets sur la croissance et le développement	9,5
Vieillessement / rides	3,5
Changements dans la couleur de la peau	3,0
Aggravation de l'eczéma	3,0
Immunisation contre les effets des dermocorticoïdes	3,0
Risque de dépendance	2,5
Persistance de cicatrices	2,0
Vergetures	1,0
Douleur / picotement	1,0
Réduction de l'immunité contre les infections	0,5
Cataracte	0,5
Cancer	0,5
Coups de soleil	0,5
Ecchymoses	0,5
Augmentation de la pilosité	0,5

Tableau II : Fréquence (en %) de survenue d'effets indésirables des stéroïdes en utilisation topique pendant six mois. [d'après Furue M *et al.*, 2002]

	Nourrissons	Enfants	Adolescents et adultes
	(< 2 ans)	([2 ; 13 ans[)	(≥ 13 ans)
	(n = 210)	(n = 546)	(n = 515)
Hypertrichose	0,5	1	2,7
Télangiectasie sur les joues	0	2,3	13,3
Atrophie cutanée du pli du coude	1,5	5,2	15,8
Atrophie cutanée du creux poplité	1,9	4,1	9,8
Vergetures	0	0	1
Acné et folliculite	0	1,3	8,2
Infection bactérienne	1,4	2,1	2,5
Infection fongique	1,9	0,6	1,2
Dermatite induite par les stéroïdes	0	0,4	3,1
Dermatite de contact	0	0,4	0,8

D'autres craintes ou croyances face aux dermocorticoïdes ont également été rapportées par ces groupes de patients [Wastiaux-Aubert H, 2009]. La survenue d'une dépendance, voire d'une accoutumance, au traitement nécessiterait l'augmentation des doses avec une incapacité à arrêter le traitement ou une perte d'efficacité de celui-ci. Certains patients redoutaient même une aggravation des symptômes : si les dermocorticoïdes empêchaient leur mal de s'exprimer sous forme d'eczéma, celui-ci pourrait se manifester sous une autre forme, moins banale. Dans un autre ordre d'idée, l'entrée dans la chronicité est redoutée en cas d'absence de guérison ou de « vraie » cause non traitée puisque les corticoïdes sont considérés comme traitement symptomatique.

Enfin, les derniers aspects évoqués par les patients concernaient des questionnements par rapport aux modalités d'application, notamment comment doser et ne pas surdoser. La crainte des dermocorticoïdes était parfois proportionnelle à l'étendue des lésions, les malades semblant plus disposés à traiter une zone précisément délimitée que la totalité d'un membre. Cependant l'application sur les endroits où la peau est fine n'est pas évidente, en raison d'un passage systémique facilité, tout comme sur les mains des jeunes enfants à cause du risque de porter à la bouche. Une dernière problématique évoquée est le niveau d'altération de la peau

pour les mêmes motifs. La durée de traitement suscitait également des questions, avec la peur de devoir faire des cures tout au long de la vie.

Certaines de ces craintes ont d'ailleurs été retrouvées dans un autre groupe focalisé, composé de professionnels de la santé : traitement d'un symptôme mais pas de la cause, risque d'effets secondaires, surdosage si lésions étendues. De plus, était spécifiquement citée chez eux la surinfection et quelques pharmaciens redoutaient le mésusage des dermocorticoïdes. Ce groupe confirmait d'ailleurs la présence de discours contradictoires, les participants eux-mêmes y ayant été soumis entre l'enseignement théorique des universités et l'évolution des recommandations de bonne pratique : ils constataient la résistance des anciens schémas malgré l'évolution des connaissances.

1.2.B. Les origines de la corticophobie

Un questionnaire établi par Wastiaux-Aubert H, 2009 a permis de quantifier la prévalence des origines des croyances des patients.

a) L'entourage

Quarante pour cent de ces patients avaient souvent été mis en garde contre l'utilisation des dermocorticoïdes par leur entourage. Celui-ci semble ainsi jouer un rôle dans la transmission de la représentation des corticoïdes et des idées reçues à leur égard. A contrario, une étude japonaise n'a pas retenu ce facteur extérieur comme significatif, entre des patients réticents à l'utilisation des dermocorticoïdes et d'autres qui acceptent ce traitement avec aucune ou une faible résistance [Fukaya M, 2000]. Ce sentiment de résistance était attribué à l'expérience personnelle, notamment l'expérimentation d'effets indésirables, de résultats de courte durée voire inefficaces.

b) Les divergences de discours

A l'affirmation « *les médecins et les pharmaciens m'ont donné les mêmes informations au sujet des crèmes aux corticoïdes* », 20% des patients interrogés déclarent « jamais » et 29% « parfois », alors que la réponse « souvent » a été notifiée dans seulement 32% des cas, et la réponse « toujours » pour 19% [Wastiaux-Aubert H, 2009].

Les patients sont parfois rendus craintifs à cause de divergences de discours entre les différents médecins consultés. Chez les patients réticents à l'usage des corticoïdes topiques, un sentiment de méfiance envers leur médecin est d'ailleurs souligné [Fukaya M, 2000]. Ces

différences concernent les zones d'application des topiques, les modalités d'arrêt du traitement (arrêt brutal ou décroissance), les effets secondaires possibles mais surtout la quantité à appliquer. L'évolution des connaissances scientifiques et donc des formations données aux professionnels de santé, pourrait apparemment expliquer une partie de ces divergences.

c) Le manque de posologie précise

Le manque de posologie précise est une des craintes majeures comme cela a été démontré par Wastiaux-Aubert H, 2009. Cette notion a été confirmée par Germain-Jadeau L, 2010 qui a montré que 66% des pharmaciens officinaux interrogés avaient des connaissances approximatives sur les posologies usuelles des dermocorticoïdes et ces notions sont acquises pour les autres ; néanmoins 94% de ces mêmes pharmaciens affirmaient préciser la posologie aux patients lors de la délivrance. Ces professionnels connaissent les propriétés de ces molécules mais des lacunes persistent sur leurs effets indésirables, même si deux tiers des pharmaciens font peu de confusion puisqu'ils préviennent d'effets secondaires à long terme, sans inquiéter les patients lors de traitements de courte durée.

Il est important de préciser que la quantité de produit à utiliser est essentielle. Elle fait en effet partie des cinq critères de qualité d'une ordonnance prescrivant un traitement topique [Pouplard C *et al.*, 2011], les autres étant le type de formulation, la fréquence d'administration, la durée de traitement et les zones à traiter. Cette étude relevait que la forme galénique n'était pas indiquée dans 26% des cas, la fréquence d'administration était absente dans 18%, les zones à traiter étaient non spécifiées dans 77% et le nombre d'unités à délivrer n'était pas noté dans 55% des ordonnances. Ainsi, seulement 35,7% des prescriptions étaient de bonne qualité, c'est-à-dire comportant au moins quatre des cinq paramètres. Il n'est pas toujours aisé d'évaluer la surface de peau affectée pour ajuster la quantité de corticoïdes. Cependant, il existe aujourd'hui différentes méthodes qui le permettent en pratique quotidienne (Annexe 1).

d) Les soignants

Un premier paramètre est la corticophobie des soignants eux-mêmes. Celle-ci peut se manifester ou par des mots manqués dans les discours tenus face aux patients par exemple. Presque un patient sur trois déclare avoir été parfois mis en garde par les médecins ou pharmaciens et un sur cinq l'a été souvent ou toujours [Wastiaux-Aubert H, 2009]. Quarante-cinq pour cent des pharmaciens sont un peu, voire très méfiants vis à vis des

dermocorticoïdes, majoritairement à cause de leur formation initiale et/ou continue ainsi que de leur expérience, professionnelle ou personnelle [Germain-Jadeau L, 2010]. Malgré ces doutes, les bénéfices apportés par ces molécules rendent l'attitude plus sereine lors de la délivrance.

D'autre part, une certaine méconnaissance des soignants à propos des effets indésirables entre également en jeu. Du côté des pharmaciens, deux sur trois savent qu'atrophie cutanée et surinfection sont parmi les effets indésirables courants et la plupart n'est à juste titre, pas inquiétée par les risques d'effets systémiques [Germain-Jadeau L, 2010]. En général, l'absence de dépendance est bien comprise, même si une certaine accoutumance peut s'installer. Cependant, le risque d'allergie de contact engendrée par les dermocorticoïdes est majoritairement ignoré alors que Baeck *et al.*, 2010 l'explique et recense des fréquences de 0,2 à 5% selon les études. L'amplitude de cet intervalle est due à différents facteurs dont le type de corticostéroïdes prescrits, tous n'ayant pas le même potentiel allergénique suivant leur structure. Enfin, notons que trois quarts des pharmaciens adaptent parfois leurs conseils en fonction de l'âge du patient, particulièrement lorsqu'il s'agit d'enfants, alors que ce n'est pas nécessaire, les recommandations de bon usage étant toujours en vigueur [Germain-Jadeau L, 2010].

1.3. Comment lutter contre la corticophobie ?

Plus de la moitié des pharmaciens pense que ses conseils ne modifient pas la pratique des patients, certains pensent même qu'ils augmenteraient les craintes des patients [Germain-Jadeau L, 2010]. Cependant, le pharmacien joue un rôle primordial dans l'éducation thérapeutique, mis en exergue par la loi Hôpital-Patient-Santé-Territoire, d'autant plus que ce professionnel de santé, spécialiste du médicament est la dernière personne compétente séparant le patient de la prise du médicament.

Il a été démontré que la clarté de l'information reçue est significativement corrélée à la corticophobie [Wastiaux-Aubert H, 2009] : il semble essentiel de préciser les conséquences possibles du traitement sur la santé, ainsi que la quantité à appliquer et la manière de le faire. Les médecins restant une source d'information primordiale des patients, la formation continue des soignants est primordiale, notamment dans ce domaine des dermocorticoïdes, et elle

nécessite une prise de conscience de leurs propres réticences, lacunes ou défauts d'actualisation.

Il a par exemple été proposé que les pharmaciens s'appuient, au cours de chaque délivrance de corticoïdes topiques, sur un guide d'utilisation pratique des dermocorticoïdes (Annexe 2) [Germain-Jadeau L, 2010].

En parallèle de cette qualité de l'information, la quantité joue aussi : plus le médecin donne d'informations, moins le patient est craintif à la prise du traitement. Ainsi, une piste de réflexion serait la remise d'une fiche explicative aux patients resituant quelques données essentielles, comme les posologies et les effets indésirables. Ce guide aux patients viendrait compléter les conseils du médecin qui jouent aussi un rôle clé en prescrivant des ordonnances suffisamment explicites avec des instructions claires pour ne laisser ni doute, ni interprétation aux malades. Cette précision éviterait aussi un discours potentiellement discordant des pharmaciens. De plus, la généralisation de pense-bêtes rapides à utiliser pour faciliter le calcul de quantité de produit selon la surface de peau à traiter pourrait être utile pour les médecins améliorer la qualité de leurs prescriptions.

Un dernier point essentiel est le dépistage et la mesure de la corticophobie pour permettre une prise en charge adaptée de ces patients, qui ont probablement plus besoin d'être écoutés et rassurés que d'autres. La mise en place d'un outil d'évaluation serait pratique. Dans un travail réalisé par Wastiaux-Aubert H en 2009, un questionnaire est proposé, reprenant 18 items présentant les principales dimensions de la corticophobie : la présence de craintes, de croyances ou de représentations, la cohérence et la qualité de l'information reçue et les stratégies de diminution du risque (Annexe 3). Cette évaluation de la corticophobie nécessite l'élaboration d'un score global car la corticophobie des patients est complexe et une simple échelle visuelle analogique, parfois proposée, ne permet de l'évaluer de manière efficace.

2. Cas clinique

L'été dernier (8 août 2011), Nicolas C., âgé de 2 ans, vient en consultation avec sa mère auprès d'un dermatologue du CHU pour des lésions évoluant depuis une semaine : après

examen clinique, l'éruption prurigineuse s'avère vésiculeuse, érythémateuse et suintante par endroits. Les lésions siègent sur les joues, les plis des coudes et les creux poplités. La peau est sèche.

Ainsi, le dermatologue pose le diagnostic d'une poussée de dermatite atopique.

Remarquons que l'interrogatoire ne révèle pas d'allergie alimentaire. Ceci a été recherché puisque la dermatite atopique peut être l'un des symptômes sous-jacents d'une maladie cœliaque dont les caractéristiques sont absentes, notamment chez l'enfant [Humbert P *et al.*, 2006]. Cette intolérance au gluten a une prévalence de 1% chez les patients atteints de dermatite atopique, ce qui est donc rare mais néanmoins supérieure à celle de la population générale.

La dermatite atopique désigne les manifestations inflammatoires cutanées chroniques et/ou récidivantes associées à l'atopie, trait héréditaire polygénique très prévalent, dont les diverses manifestations cliniques (dermatite atopique, rhinite allergique et asthme) touchent environ le tiers de la population générale, souvent des nourrissons et enfants.

Le dermatologue a instauré un traitement par un dermocorticoïde en crème, Locapred® (Désonide) du groupe II (selon la classification internationale, donc d'activité modérée) à appliquer en massant légèrement les lésions sur peau sèche, tous les soirs pendant dix jours puis un soir sur deux pendant huit jours avant de passer à deux fois par semaine pendant 15 jours, puis arrêt total en absence de nouvelles poussées. La quantité à utiliser était d'une phalange pour la totalité des lésions. Une unité phalange correspond à la quantité de crème sortant d'un tube avec une ouverture de 5 mm de diamètre et sur la longueur de la phalange de l'index d'un adulte, cette quantité de crème peut recouvrir 2% de surface corporelle, sachant que la surface d'une main (paume et doigts) représente 1%.

D'autres conseils ont été donnés, tels l'utilisation constante d'une crème émolliente et d'un savon doux surgras (ou syndet = synthetic detergent). A également été recommandée l'installation d'humidificateurs, l'air sec étant un facteur aggravant la dermatite atopique. Il ne faut pas trop couvrir l'enfant, ni trop élever la température de sa chambre. Le bain ne doit pas être trop chaud (pas plus de 33°C), ni trop long (pas plus de cinq minutes), pour éviter d'exacerber la sécheresse de la peau. Il faut éviter le port de la laine qui renforce le prurit et la sécheresse de la peau, et conseiller des sous-vêtements en coton à manches longues.

Le médecin a demandé à revoir le jeune patient trois mois plus tard, c'est-à-dire en novembre.

En décembre 2011, la mère est découragée et inquiète par la non évolution de la maladie, la persistance des lésions et décide de consulter de nouveau le dermatologue du

CHU. Le médecin réalise de nouveau un examen clinique et un interrogatoire mais ne comprend d'abord pas l'échec thérapeutique face à ces lésions caractéristiques d'une dermatite atopique modérée. Il affine alors son interrogatoire et découvre que :

- la mère n'utilise pas le médicament prescrit mais a apporté un tube de Flixivate® crème (Fluticasone) qui est un dermocorticoïde de classe supérieure. Elle explique que début octobre, l'absence d'efficacité du traitement instauré l'a poussée à consulter son médecin généraliste qui lui a prescrit ce médicament face à la persistance des lésions ;
- la mère applique les dermocorticoïdes de façon inconstante, moins d'un jour sur deux, sans rythme vraiment régulier et à des doses non précises.

* La patiente utilisait mal la crème prescrite. Lors de la délivrance, le pharmacien avait semblé dubitatif face à l'ordonnance, surtout sur un enfant en bas âge avec une peau lésée et préconisait d'éviter l'usage quotidien. Il lui avait parlé de risque de problèmes de poids, de syndrome de Cushing, de repos des surrénales et avait conseillé de ne pas faire ce traitement au long cours comme prescrit. Ces paroles ont suscité une crainte à l'usage quotidien chez la mère...

* L'échec du traitement se comprend alors, suite à cette peur instaurée par le pharmacien. De surcroît, la pathologie ne régressant pas, la mère a consulté un médecin généraliste qui lui a donné une classe supérieure. Or, l'échappement thérapeutique n'était pas dû à une inefficacité du dermocorticoïde de classe II prescrit initialement mais à son mésusage. C'est ce mésusage qui a conduit à la prescription d'une molécule plus forte. L'observance correcte du traitement initial (en quantité à appliquer, rythme...) aurait dû suffire. De plus, le médecin généraliste aurait dû vérifier le mode d'utilisation de cette crème aux corticoïdes et éventuellement en changer le rythme.

Le dermatologue du CHU a donc prescrit de nouveau Locapred® avec le même schéma posologique et a donné de nombreux conseils et explications. La clé du traitement n'est pas dans le changement de thérapeutique mais dans le respect du bon usage de la prescription initiale et le suivi des conseils. Ainsi, ici, le médecin a insisté sur le fait que les effets indésirables des dermocorticoïdes correctement utilisés sont peu fréquents et peu dangereux. Il a également pris le temps d'expliquer la posologie : une application le soir pendant 15 jours et la crème est à doser selon les unités phalanges. La première application a été réalisée par la mère devant le médecin pour ajuster les idées, notamment sur les quantités.

Ce jeune Nicolas a été revu en février pour son suivi de contrôle et il va très bien. Sa peau reste sèche mais n'a plus rien à voir avec les lésions antérieures... Et sa mère est rassurée, ayant bien compris les tenants et aboutissants.

En conclusion de ce cas, pour éviter le mésusage et l'échappement thérapeutique, les professionnels de santé doivent travailler de façon complémentaire puisqu'il est essentiel de développer les conseils apportés aux patients. Dans de telles situations, le changement de groupe de puissance dû à un mésusage n'améliorera pas l'évolution de la pathologie : c'est un point sur lequel il est important de sensibiliser les équipes soignantes. Pour cela, l'importance de posologies exactes n'est plus à démontrer, y compris pour les dermocorticoïdes qui sont un traitement à part entière, aussi efficaces que d'autres et dont les posologies doivent être aussi précises que pour un traitement per os. Or beaucoup de traitements locaux ne sont pas associés à des posologies et il y a donc nécessité d'éduquer les prescripteurs pour que cette précision soit automatique.

Enfin, soulignons l'importance de l'éducation des pharmaciens qui donnent les derniers conseils avant la prise du médicament par le patient. Ils ont un rôle multiple : d'abord comprendre l'ordonnance sans la contredire, ensuite penser à contacter le médecin prescripteur en l'absence de posologie.

Conclusion

La dermocorticophobie est un fait réel, au moins présent chez un patient sur deux et qui ne peut être ignorée des équipes médicales et pharmaceutiques. Elle est surtout due à une crainte accrue des effets indésirables qui sont surestimés et des mises en garde imprécises, tant du médecin que de l'entourage. Cette angoisse peut aussi être véhiculée par une incohérence des messages reçus par les patients, liée à un manque d'actualisation des pratiques mais également à une relative corticophobie des soignants eux-mêmes. Précisons que les dermocorticoïdes restent des médicaments et que paradoxalement, la plupart de leurs prescriptions n'est pas associée à une posologie, ce qui peut susciter des mésusages. De ce

fait, avant d'envisager de monter en puissance dans la prescription, il est indispensable d'évaluer les pratiques des patients.

La bonne utilisation des dermocorticoïdes nécessite des connaissances de base (Annexe 2) que le personnel soignant doit acquérir et savoir mettre à disposition des patients concernés. Dispenser des informations claires et simples sur les risques et bénéfices des corticostéroïdes locaux est essentiel pour une bonne adhésion thérapeutique du patient et une utilisation optimale au long cours, tant en sécurité qu'en efficacité. Les pharmaciens et médecins doivent travailler en étroite collaboration et celle-ci a un tel enjeu qu'en son absence, des échecs thérapeutiques peuvent survenir, liés à des divergences de discours entre ces professionnels de santé.

Ainsi, là encore, comme dans tant d'autres domaines, l'importance d'une bonne relation entre le médecin et le malade joue un rôle non négligeable.

Bibliographie

Aubert H, Barbarot S. Non-adhésion et corticothérapie. *Ann Dermatol Vener* 2012 ; 139 : S7-S12.

Baeck M, Marot L, Nicolas JF, Tennstedt D, Goossens A. Hypersensibilité allergique aux corticostéroïdes topiques et systémiques. *Rev Fr Allergol* 2010 ; 50 : 146-62.

Charman CR, Williams H. The use of corticosteroids and corticosteroid phobia in atopic dermatitis. *Clin Dermatol* 2003 ; 21 : 193–200.

Fukaya M. Why do patients with atopic dermatitis refuse to apply topical corticosteroids? *Dermatology* 2000 ; 201 : 242-5.

Furue M, Terao H, Rikihisa W, Urabe K, Kinukawa N, Nose Y et al. Clinical dose and adverse effects of topical steroids in daily management of atopic dermatitis. *Brit J Dermatol* 2003 ; 148 : 128-33.

Germain-Jadeau L. Dermocorticoïdes : rôle du pharmacien dans l'adhésion et l'éducation thérapeutique du patient [Thèse pour le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie]. Nantes. Faculté de Pharmacie, 2010.

Humbert P, Pelletier F, Dreno B, Puzenat E, Aubin F. Gluten intolerance and skin diseases. *Eur J Dermatol* 2006 ; 16 : 4-11.

Pouplard C, Gourraud PA, Meyer N, Livideanu CB, Lahfa M, Mazereeuw-Hautier J et al. Are we giving enough information on how to use topical treatments? Analysis of 767 prescriptions in psoriasis. *Brit J Dermatol* 2011 ; 165 : 1332-6.

Wastiaux Aubert H. La corticophobie dans la dermatite atopique : création et validation d'un outil d'évaluation [Thèse pour le Diplôme d'Etat de Docteur en Médecine, DES de Dermatologie et Vénérologie]. Nantes. Faculté de Médecine, 2009.

Critères d'exclusion de l'étude clinique

- Hypersensibilité à l'un des produits contenus dans la préparation
- Hypersensibilité à la colophane
- Hypersensibilité aux dermocorticoïdes
- Infections primitives bactériennes, virales, fongiques ou parasitaires
- Lésions ulcérées
- Acné, rosacée, dermatite périorale
- Femme enceinte ou allaitante
- Sujet ayant pris tout traitement par voie générale ou locale (dermocorticoïdes, corticoïdes, antihistaminiques...) susceptible d'interférer avec l'évaluation du paramètre étudié.
- Phototype V et VI
- Sujet atteint de toute maladie aigue ou chronique grave susceptible d'interférer avec l'évaluation du paramètre étudié.
- Sujet étant en période d'exclusion, ou participant à une autre étude
- Sujet ne pouvant être contacté en cas d'urgence par téléphone
- Sujet majeur protégé par la loi
- Sujet ayant reçu plus de 4500 euros à titre d'indemnisation pour sa participation à des essais cliniques dans les 12 mois précédents, y compris la participation à la présente étude
- Incapacité légale ou capacité légale limitée
- Sujet peu susceptible de coopérer à l'étude et/ou faible coopération anticipée par l'investigateur
- Sujet sans assurance de santé

PROTOCOLE CYCLE IP

A partir des cellules mises de côté par le protocole Annexine V/IP (X conditions + témoin DMEMc)

- Eliminer le SN par retournement et ajouter 3ml de PBS froid
 - Remettre les cellules en suspension et centrifuger à 1100 tours/min pendant 5min
 - Eliminer le SN par retournement et ajouter 3ml de PBS froid
 - Remettre les cellules en suspension et centrifuger à 1100 tours/min pendant 5min
 - Eliminer le SN à l'aide d'une pipette pour ne conserver que le culot cellulaire
 - Ajouter dans chaque tube, 1ml d'éthanol froid 70% goutte à goutte en vortexant à faible vitesse
- (Possibilité de conserver jusqu'à 15 jours à +4°C avant le passage au cytomètre)

Avant le passage au cytomètre (à réaliser à l'IBCT)

- Ajouter 3mL de PBS froid directement sur les cellules fixées (utiliser pompe doseuse dans frigo)
- Centrifuger à 4 degrés, 1500 tours/min pendant 5min (!! bien vérifier les réglages de la centrifugeuse)
- Préparer dans un nouveau tube, la solution à ajouter avant le passage au cytomètre : (300 µL de PBS, 1 µL de RNase (µtube au congélateur noté A), 5 µL d'IP (frigo tube avec liquide rouge dans portoir polystyrène)) (produits stockés à l'IBCT) x nb de conditions
- Eliminer le SN par retournement
- Ajouter 3mL de PBS (pas dans la procédure du LIBC)
- Centrifuger à 4 degrés, 1500 tours/min pendant 5min
- Eliminer le SN par retournement et reprendre les cellules dans 300 µL du mélange préparé précédemment
- Transférer le mélange dans un tube pour cytomètre et vortexer
- Passage au cytomètre

PROTOCOLE MARQUAGE ANNEXINE V / IP

- Retirer et garder le surnageant (SN) des P6 contenant les cellules mortes dans un falcon 15
- Rinçage avec 2mL de PBS chaud, garder SN avec les précédents. A répéter 2 fois.
- Trypsiner (1mL) les cellules des P6 pendant 10 min. Puis choquer les boîtes avant de les remettre 2min à l'étuve si les cellules adhèrent. Bloquer l'effet de la trypsine par 2mL de DMEMc,
- Pooler les cellules trypsinées de la flasque avec le SN
- Séparer les tubes en 2 : une partie pour le AV/IP et une autre pour le cycle IP (cf protocole)
- Ajouter 3ml de PBS froid
- Centrifuger à 1100 tours/min pendant 5 min
- Eliminer le SN par retournement et ajouter 3ml de PBS froid
- Remettre les cellules en suspension dans 3ml de PBS froid et centrifuger à 1100 tours/min pendant 5min
- Eliminer le SN à l'aide d'une pipette pour ne conserver que le culot cellulaire

Pour les CS :

- Remettre les cellules en suspension dans 150µL de tampon de liaison (dilué au 10^{ème} dans l'eau distillée car le kit fourni du 10X et on a besoin de 1X) dans X tubes de cytomètre bleu de 5ml
- Ajouter 5 µL d'Annexine V et 5 µL d'IP (kit)
- Vortexer et laisser incuber 20 min à l'obscurité
- Ajouter 150µL de tampon de liaison juste avant de passer au cytomètre

Pour les contrôles et le témoin DMEMc :

- Remettre les cellules en suspension dans 600µL de tampon de liaison
- Transférer 150µL dans 4 tubes de cytomètre de 5ml
- Ajouter 5 µL d'Annexine V et/ou 5 µL d'IP en fonction du contrôle (cf NB)
- Vortexer et laisser incuber 20 min à l'obscurité
- Ajouter 150µL de tampon de liaison juste avant de passer au cytomètre

⇒ Passage au cytomètre

NB : X = nb de conditions expérimentales (avec CS ou son témoin)

- + 1 contrôle cellules non marquées (150 µL cellules cultivées avec DMEM dans le tampon de liaison)
- + 1 contrôle IP (150 µL cellules cultivées avec DMEM dans le tampon de liaison + 5µL IP)
- + 1 contrôle AV (150 µL cellules cultivées avec DMEM dans le tampon de liaison + 5µL AV)
- + 1 témoin du CS : AV+ IP (150 µL cellules cultivées avec DMEM dans le tampon de liaison + 5µL AV + 5µL IP)

Références bibliographiques

1. Hench PS, Kendall EC. The effect of a hormone of the adrenal cortex (17-hydroxy-11-dehydrocorticosterone; compound E) and of pituitary adrenocorticotrophic hormone on rheumatoid arthritis. *Proc Staff Meet Mayo Clin.* 13 avr 1949;24(8):181-97.
2. Sulzberger MB, Witten VH. The effect of topically applied compound F in selected dermatoses. *J Invest Dermatol.* août 1952;19(2):101-2.
3. Verma SB. Sales, status, prescriptions and regulatory problems with topical steroids in India. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* juin 2014;80(3):201-3.
4. Baeck M, Marot L, Nicolas J-F, Pilette C, Tennstedt D, Goossens A. Allergic hypersensitivity to topical and systemic corticosteroids: a review. *Allergy.* juill 2009;64(7):978-94.
5. Bikowski J, Pillai R, Shroot B. The position not the presence of the halogen in corticosteroids influences potency and side effects. *J Drugs Dermatol JDD.* févr 2006;5(2):125-30.
6. Biver-Dalle C, Guichard A, Vigan M, Humbert P, Aubin F. [Hypersensitivity to topical steroids]. *Ann Dermatol Vénéréologie.* juin 2012;139(6-7):489-99; quiz 488, 500.
7. Carson-Jurica MA, Schrader WT, O'Malley BW. Steroid receptor family: structure and functions. *Endocr Rev.* mai 1990;11(2):201-20.
8. Richard D, Senon J-L, Roblot P. Corticoïdes et corticothérapie. Hermann; 1997.
9. Roumestan C, Gougat C, Jaffuel D, Mathieu M. [Glucocorticoids and their receptor: mechanisms of action and clinical implications]. *Rev Médecine Interne Fondée Par Société Natl Française Médecine Interne.* sept 2004;25(9):636-47.
10. Schäcke H, Döcke WD, Asadullah K. Mechanisms involved in the side effects of glucocorticoids. *Pharmacol Ther.* oct 2002;96(1):23-43.
11. Fardet L, Lebrun-Vignes B, Herson S, Chosidow O. Corticothérapie générale - Thérapeutique Dermatologique [Internet]. 2012 [cité 1 sept 2014]. Disponible sur: <http://www.therapeutique-dermatologique.org/spip.php?article1356&lang=fr>
12. Chosidow O, Bourgault-Villada I, Lebrun-Vignes B. Corticothérapie locale - Thérapeutique Dermatologique [Internet]. 2005 [cité 1 sept 2014]. Disponible sur: <http://www.therapeutique-dermatologique.org/spip.php?article1408&lang=fr>
13. Lebrun-Vignes B, Chosidow O. Dermocorticoïdes. EMC [Internet]. Elsevier Masson SAS, Paris. 2011 [cité 2 sept 2014]. Disponible sur: <http://www.em-consulte.com/article/301724/dermocorticoïdes>
14. McKenzieE AW, Stoughton RB. Method for comparing percutaneous absorption of steroids. *Arch Dermatol.* 1 nov 1962;86(5):608-10.
15. Uva L, s, Miguel D, Pinheiro C, Antunes J, Cruz D, et al. Mechanisms of Action of Topical Corticosteroids in Psoriasis. *Int J Endocrinol.* 20 nov 2012;2012:e561018.

16. Plantin P. Peau du nouveau-né. Thérapeutique Dermatologique [Internet]. Paris; 2012 [cité 2 sept 2014]. p. 1109-12. Disponible sur: <http://www.therapeutique-dermatologique.org/spip.php?article1377>
17. Lebrun-Vignes B, Chosidow O. [Topical corticosteroids]. *Ann Dermatol Vénéréologie*. janv 2004;131(1 Pt 1):39-48.
18. Lagos BR, Maibach HI. Frequency of application of topical corticosteroids: an overview. *Br J Dermatol*. nov 1998;139(5):763-6.
19. Touraine R, Revuz J. Abrégé de dermatologie clinique et vénéréologie. Paris: Masson; 1991.
20. Finlay AY, Edwards PH, Harding KG. « Fingertip unit » in dermatology. *Lancet*. 15 juill 1989;2(8655):155.
21. Long C c., Mills C m., Finlay A y. A practical guide to topical therapy in children. *Br J Dermatol*. 1 févr 1998;138(2):293-6.
22. Hengge UR, Ruzicka T, Schwartz RA, Cork MJ. Adverse effects of topical glucocorticosteroids. *J Am Acad Dermatol*. janv 2006;54(1):1-15; quiz 16-8.
23. Castela E, Archier E, Devaux S, Gallini A, Aractingi S, Cribier B, et al. Topical corticosteroids in plaque psoriasis: a systematic review of risk of adrenal axis suppression and skin atrophy. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 1 mai 2012;26:47-51.
24. Van Velsen SGA, Knol MJ, van Eijk RLA, de Vroede MA, de Wit TC, Lam MGEH, et al. Bone mineral density in children with moderate to severe atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol*. nov 2010;63(5):824-31.
25. Tempark T, Phatarakijrurund V, Chatproedprai S, Watcharasindhu S, Supornsilchai V, Wananukul S. Exogenous Cushing's syndrome due to topical corticosteroid application: case report and review literature. *Endocrine*. déc 2010;38(3):328-34.
26. Patel L, Clayton PE, Jenney ME, Ferguson JE, David TJ. Adult height in patients with childhood onset atopic dermatitis. *Arch Dis Child*. juin 1997;76(6):505-8.
27. Chi C-C, Wang S-H, Mayon-White R, Wojnarowska F. Pregnancy outcomes after maternal exposure to topical corticosteroids: a UK population-based cohort study. *JAMA Dermatol*. nov 2013;149(11):1274-80.
28. Feldman SR. Tachyphylaxis to topical corticosteroids: the more you use them, the less they work? *Clin Dermatol*. juin 2006;24(3):229-30; discussion 230.
29. Carroll CL, Feldman SR, Camacho FT, Manuel JC, Balkrishnan R. Adherence to topical therapy decreases during the course of an 8-week psoriasis clinical trial: commonly used methods of measuring adherence to topical therapy overestimate actual use. *J Am Acad Dermatol*. août 2004;51(2):212-6.
30. Krejci-Manwaring J, Tusa MG, Carroll C, Camacho F, Kaur M, Carr D, et al. Stealth monitoring of adherence to topical medication: adherence is very poor in children with atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol*. févr 2007;56(2):211-6.

31. Witkowski JA. Compliance: the dermatologic patient. *Int J Dermatol.* nov 1988;27(9):608-11.
32. Fischer G. Compliance problems in paediatric atopic eczema. *Australas J Dermatol.* mai 1996;37 Suppl 1:S10-3.
33. Aubert H, Barbarot S. [Non adherence and topical steroids]. *Ann Dermatol Vénéréologie.* janv 2012;139 Suppl 1:S7-12.
34. Beattie PE, Lewis-Jones MS. Parental knowledge of topical therapies in the treatment of childhood atopic dermatitis. *Clin Exp Dermatol.* sept 2003;28(5):549-53.
35. Charman CR, Morris AD, Williams HC. Topical corticosteroid phobia in patients with atopic eczema. *Br J Dermatol.* mai 2000;142(5):931-6.
36. Hon K-LE, Kam W-YC, Leung T-F, Lam M-CA, Wong K-Y, Lee K-CK, et al. Steroid fears in children with eczema. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992. nov 2006;95(11):1451-5.
37. Aubert-Wastiaux H, Moret L, Le Rhun A, Fontenoy AM, Nguyen JM, Leux C, et al. Topical corticosteroid phobia in atopic dermatitis: a study of its nature, origins and frequency. *Br J Dermatol.* oct 2011;165(4):808-14.
38. Menter A, Korman NJ, Elmets CA, Feldman SR, Gelfand JM, Gordon KB, et al. Guidelines of care for the management of psoriasis and psoriatic arthritis. Section 3. Guidelines of care for the management and treatment of psoriasis with topical therapies. *J Am Acad Dermatol.* avr 2009;60(4):643-59.
39. Haigh JM, Kanfer I. Assessment of topical corticoeroid preparations: the human skin blanching assay. *Int J Pharm.* mai 1984;19(3):245-62.
40. Stoughton RB. Vasoconstrictor activity and percutaneous absorption of glucocorticosteroids: A direct comparison. *Arch Dermatol.* 1 juin 1969;99(6):753-6.
41. Anonyme. Corticosteroids for the skin. *Drug Ther Bull.* 21 janv 1977;15(2):5-8.
42. Smit P, Neumann H a. M, Thio HB. The skin-blanching assay. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV.* oct 2012;26(10):1197-202.
43. Haigh JM, Meyer E, Smith EW, Kanfer I. The human skin blanching assay for in vivo topical corticosteroid assessment: I. Reproducibility of the assay. *Int J Pharm.* 26 juin 1997;152(2):179-83.
44. Smith JG, Wehr RF, Chalker DK. Corticosteroid-induced cutaneous atrophy and telangiectasia. Experimental production associated with weight loss in rats. *Arch Dermatol.* août 1976;112(8):1115-7.
45. Kanfer I. Strategies for the Bioequivalence Assessment of Topical Dermatological Dosage Forms. *J Bioequivalence Bioavailab.* 2010;02(05).
46. Sm B, Fm H, E L, Ca S, L W. Diflorasone diacetate: vasoconstrictor activity and clinical efficacy of a new topical corticosteroid. *J Int Med Res.* déc 1975;4(6):454-61.

47. Rampini E, Rastelli A, Cardo P. Comparative study of the vasoconstrictor activity of halopredone acetate in a modified McKenzie test. *Eur J Clin Pharmacol*. 1 sept 1978;14(5):325-9.
48. Korting HC, Schöllmann C, Willers C, Wigger-Alberti W. Bioavailability, antipsoriatic efficacy and tolerability of a new light cream with mometasone furoate 0.1%. *Skin Pharmacol Physiol*. 2012;25(3):133-41.
49. Görne RC, Greif C, Metzner U, Wigger-Alberti W, Elsner P. Assessment of topical corticosteroid activity using the vasoconstriction assay in healthy volunteers. *Skin Pharmacol Physiol*. 2007;20(3):133-40.
50. Stoughton RB. Are generic formulations equivalent to trade name topical glucocorticoids? *Arch Dermatol*. 1 oct 1987;123(10):1312-4.
51. Olsen EA. A double-blind controlled comparison of generic and trade-name topical steroids using the vasoconstriction assay. *Arch Dermatol*. 1 févr 1991;127(2):197-201.
52. Stoughton RB. The Vasoconstrictor Assay in Bioequivalence Testing: Practical Concerns and Recent Developments. *Int J Dermatol*. 1 oct 1992;31:26-8.
53. Barry BW, Woodford R. Comparative bio-availability of proprietary topical corticosteroid preparations; vasoconstrictor assays on thirty creams and gels. *Br J Dermatol*. sept 1974;91(3):323-38.
54. Magnus AD, Haigh JM, Kanfer I. Assessment of some variables affecting the blanching activity of betamethasone 17-valerate cream. *Dermatologica*. 1980;160(5):321-7.
55. Haigh JM, Meyer E, Smith EW, Kanfer I. The human skin blanching assay for in vivo topical corticosteroid assessment: II. Subject- and observer-dependent variation in blanching responses. *Int J Pharm*. 26 juin 1997;152(2):185-92.
56. Pershing LK. New approaches to assess topical corticosteroid bioequivalence: pharmacokinetic evaluation. *Int J Dermatol*. oct 1992;31 Suppl 1:14-20.
57. Stoughton RB, Cornell RC. Review of super-potent topical corticosteroids. *Seminars in Dermatology*. 1987. p. 72-6.
58. Henry F, Fumal I, Piérard GE. Postural skin colour changes during the corticosteroid blanching assay. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*. août 1999;12(4):199-210.
59. FDA. Guidance for Industry : « topical dermatologic corticosteroids: in vivo bioequivalence ». 1995.
60. Leopold CS. Pharmacokinetic analysis of the FDA guidance for industry--'Topical dermatologic corticosteroids: in vivo bioequivalence'. *Eur J Pharm Biopharm Off J Arbeitsgemeinschaft Für Pharm Verfahrenstechnik EV*. juill 2003;56(1):53-8.
61. Schwarb FP, Smith EW, Haigh JM, Surber C. Analysis of chromameter results obtained from corticosteroid-induced skin blanching assay: comparison of visual and chromameter data. *Eur J Pharm Biopharm*. mai 1999;47(3):261-7.

62. Queille-Roussel C, Poncet M, Schaefer H. Quantification of skin-colour changes induced by topical corticosteroid preparations using the Minolta Chroma Meter. *Br J Dermatol.* mars 1991;124(3):264-70.
63. Bronaugh RL, Maibach HI. *Topical Absorption of Dermatological Products.* CRC Press; 2002. 539 p.
64. Queille-Roussel C, Duteil L, Padilla JM, Poncet M, Czernielewski J. Objective assessment of topical anti-inflammatory drug activity on experimentally induced nickel contact dermatitis: comparison between visual scoring, colorimetry, laser Doppler velocimetry and transepidermal water loss. *Skin Pharmacol Off J Skin Pharmacol Soc.* 1990;3(4):248-55.
65. Smith EW, Haigh JM, Surber C. Quantification of corticosteroid-induced skin vasoconstriction: visual ranking, chromameter measurement or digital imaging analysis. *Dermatol Basel Switz.* 2002;205(1):3-10.
66. Sommer A, Lucassen GW, Houben AJHM, Neumann MHA. Vasoconstrictive effect of topical applied corticosteroids measured by laser doppler imaging and reflectance spectroscopy. *Microvasc Res.* mai 2003;65(3):152-9.
67. Andersen P, Milioni K, Maibach H. The cutaneous corticosteroid vasoconstriction assay: a reflectance spectroscopic and laser-Doppler flowmetric study. *Br J Dermatol.* juin 1993;128(6):660-5.
68. Noon JP, Evans CE, Haynes WG, Webb DJ, Walker BR. A comparison of techniques to assess skin blanching following the topical application of glucocorticoids. *Br J Dermatol.* mai 1996;134(5):837-42.
69. Broby-Johansen U, Karlsmark T, Petersen LJ, Serup J. Ranking of the antipsoriatic effect of various topical corticosteroids applied under a hydrocolloid dressing--skin-thickness, blood-flow and colour measurements compared to clinical assessments. *Clin Exp Dermatol.* sept 1990;15(5):343-8.
70. Rosina P, Giovannini A, Gisondi P, Girolomoni G. Microcirculatory modifications of psoriatic lesions during topical therapy. *Skin Res Technol.* mai 2009;15(2):135-8.
71. Stinco G, Lautieri S, Piccirillo F, Valent F, Patrone P. Response of cutaneous microcirculation to treatment with mometasone furoate in patients with psoriasis. *Clin Exp Dermatol.* déc 2009;34(8):915-9.
72. Hern S, Mortimer PS. In vivo quantification of microvessels in clinically uninvolved psoriatic skin and in normal skin. *Br J Dermatol.* juin 2007;156(6):1224-9.
73. Demana PH, Smith EW, Walker RB, Haigh JM, Kanfer I. Evaluation of the proposed FDA pilot dose-response methodology for topical corticosteroid bioequivalence testing. *Pharm Res.* mars 1997;14(3):303-8.
74. Smith EW, Haigh JM, Walker RB. Analysis of chromameter results obtained from corticosteroid-induced skin blanching. I: Manipulation of data. *Pharm Res.* févr 1998;15(2):280-5.

75. Parneix-Spake A, Goustas P, Green R. Eumovate (clobetasone butyrate) 0.05% cream with its moisturizing emollient base has better healing properties than hydrocortisone 1% cream: a study in nickel-induced contact dermatitis. *J Dermatol Treat.* déc 2001;12(4):191-7.
76. Levin C, Maibach HI. An overview of the efficacy of topical corticosteroids in experimental human nickel contact dermatitis. *Contact Dermatitis.* déc 2000;43(6):317-21.
77. Alomar A, Puig L, Gallardo CM, Valenzuela N. Topical tacrolimus 0.1% ointment (protopic) reverses nickel contact dermatitis elicited by allergen challenge to a similar degree to mometasone furoate 0.1% with greater suppression of late erythema. *Contact Dermatitis.* oct 2003;49(4):185-8.
78. Bhardwaj SS, Jaimes JP, Liu A, Warshaw EM. A double-blind randomized placebo-controlled pilot study comparing topical immunomodulating agents and corticosteroids for treatment of experimentally induced nickel contact dermatitis. *Dermatitis.* mars 2007;18(1):26-31.
79. Hachem JP, De Paepe K, Vanpée E, Bogaerts M, Kaufman L, Rogiers V, et al. Efficacy of topical corticosteroids in nickel-induced contact allergy. *Clin Exp Dermatol.* janv 2002;27(1):47-50.
80. Seidenari S, Di Nardo A, Mantovani L, Giannetti A. Parallel intraindividual evaluation of the vasoconstrictory action and the anti-allergic activity of topical corticosteroids. *Exp Dermatol.* avr 1997;6(2):75-80.
81. Seidenari S, Di Nardo A, Giannetti A. Assessment of topical corticosteroid activity on experimentally induced contact dermatitis: echographic evaluation with binary transformation and image analysis. *Skin Pharmacol Off J Skin Pharmacol Soc.* 1993;6(2):85-91.
82. Josse G, Rouvrais C, Mas A, Haftek M, Delalleau A, Ferraq Y, et al. A multitechnique evaluation of topical corticosteroid treatment. *Skin Res Technol.* févr 2009;15(1):35-9.
83. Ortega E, Rodriguez C, Burdick KH, Place VA, Gonzales L. The croton oil inflammation suppression assay as a measure of topical corticosteroid potency. *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh).* mai 1971;52(67):95-7.
84. Sukanto H, Nater JP, Bleumink E. Suppression of ultraviolet erythema by topical corticosteroids. *Dermatologica.* 1980;161(2):84-8.
85. Jocher A, Kessler S, Hornstein S, Schulte Mönning J, Schempp CM. The UV erythema test as a model to investigate the anti-inflammatory potency of topical preparations--reevaluation and optimization of the method. *Skin Pharmacol Physiol.* oct 2005;18(5):234-40.
86. Faurschou A, Wulf HC. Topical corticosteroids in the treatment of acute sunburn: a randomized, double-blind clinical trial. *Arch Dermatol.* mai 2008;144(5):620-4.
87. Stengel R, Stricker R, Schöpf E. [Anti-inflammatory effect and tachyphylaxis of systemic and combined systemic-topical treatment with corticosteroids in the pyrexal erythema test]. *Z Für Hautkrankh.* 1 déc 1984;59(23):1620-2.

88. Pershing LK, Silver BS, Krueger GG, Shah VP, Skelley JP. Feasibility of measuring the bioavailability of topical betamethasone dipropionate in commercial formulations using drug content in skin and a skin blanching bioassay. *Pharm Res.* janv 1992;9(1):45-51.
89. Au WL, Skinner MF, Benfeldt E, Verbeeck RK, Kanfer I. Application of Dermal Microdialysis for the Determination of Bioavailability of Clobetasol Propionate Applied to the Skin of Human Subjects. *Skin Pharmacol Physiol.* 22 août 2011;25(1):17-24.
90. Wiedersberg S, Naik A, Leopold CS, Guy RH. Pharmacodynamics and dermatopharmacokinetics of betamethasone 17-valerate: assessment of topical bioavailability. *Br J Dermatol.* mars 2009;160(3):676-86.
91. Narasimha SK, Srinivas CR, Mathew AC. Effect of topical corticosteroid application frequency on histamine-induced wheals. *Int J Dermatol.* mai 2005;44(5):425-7.
92. Liu C, Zhou J, Zhang L-D, Wang Y-X, Kang Z-M, Chen Y-Z, et al. Rapid inhibitory effect of corticosterone on histamine release from rat peritoneal mast cells. *Horm Metab Res.* avr 2007;39(4):273-7.
93. Zhou J, Li M, Sheng C-Q, Liu L, Li Z, Wang Y, et al. A novel strategy for development of glucocorticoids through non-genomic mechanism. *Cell Mol Life Sci CMLS.* avr 2011;68(8):1405-14.
94. Barathi M, Rai R, Srinivas CR. The efficacy of clobetasol propionate with varying dilutions of emollient determined by histamine wheal suppression test. *Indian J Dermatol.* oct 2011;56(5):527-8.
95. Sekine R, Satoh T, Takaoka A, Saeki K, Yokozeki H. Anti pruritic effects of topical crotamiton, capsaicin, and a corticosteroid on pruritogen-induced scratching behavior. *Exp Dermatol.* 1 mars 2012;21(3):201-4.
96. Reddy BS, Singh G. A new model for human bioassay of topical corticosteroids. *Br J Dermatol.* févr 1976;94(2):191-3.
97. Courderot-Masuyer C, Robin S, Tauzin H, Harbon S, Mac-Mary S, Guichard A, et al. Evaluation of the Effects of Corticosteroids on Histamine Release by ex vivo Cutaneous Microdialysis. *J Cosmet Dermatol Sci Appl.* 2013;03(03):228-33.
98. Ardigò M, Agozzino M, Longo C, Conti A, Di Lernia V, Berardesca E, et al. Psoriasis plaque test with confocal microscopy: evaluation of different microscopic response pathways in NSAID and steroid treated lesions. *Skin Res Technol.* nov 2013;19(4):417-23.
99. Luong MS, Luong MP, Lok C, Carmi E, Chaby G, Viseux V. [Bioavailability evaluation of dermocorticoids using differential infrared thermography]. *Ann Dermatol Venereol.* sept 2000;127(8-9):701-5.
100. Thomas KS, Armstrong S, Avery A, Po ALW, O'Neill C, Young S, et al. Randomised controlled trial of short bursts of a potent topical corticosteroid versus prolonged use of a mild preparation for children with mild or moderate atopic eczema. *BMJ.* 30 mars 2002;324(7340):768.

101. Green L, Sadoff W. A clinical evaluation of tazarotene 0.1% gel, with and without a high- or mid-high-potency corticosteroid, in patients with stable plaque psoriasis. *J Cutan Med Surg.* avr 2002;6(2):95-102.
102. Nakagawa H. Comparison of the efficacy and safety of 0.1% tacrolimus ointment with topical corticosteroids in adult patients with atopic dermatitis: review of randomised, double-blind clinical studies conducted in Japan. *Clin Drug Investig.* 2006;26(5):235-46.
103. Wolkerstorfer A, Strobos MA, Glazenburg EJ, Mulder PG, Oranje AP. Fluticasone propionate 0.05% cream once daily versus clobetasone butyrate 0.05% cream twice daily in children with atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol.* août 1998;39(2 Pt 1):226-31.
104. Ashton RE, Catterall M, Morley N, Fairris G, Joseph DN. A double-blind comparison of 0.25% and 0.05% desoxymethasone, 0.1% betamethasone valerate and 1% hydrocortisone creams in the treatment of eczema. *J Int Med Res.* juin 1987;15(3):160-6.
105. Lehman PA, Franz TJ. Assessing Topical Bioavailability and Bioequivalence: A Comparison of the In vitro Permeation Test and the Vasoconstrictor Assay. *Pharm Res.* 9 juill 2014;
106. Ashworth J. Potency classification of topical corticosteroids: modern perspectives. *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh).* 1989;151:20-5; discussion 47-52.
107. Kligman LH. Rapid assay of the anti-inflammatory activity of topical corticosteroids by inhibition of a UVA-induced neutrophil infiltration in hairless mouse skin. II. Assessment of name brand versus generic potency. *Acta Derm Venereol.* janv 1994;74(1):18-9.
108. Katchman SD, Del Monaco M, Wu M, Brown D, Hsu-Wong S, Uitto J. A transgenic mouse model provides a novel biological assay of topical glucocorticosteroid potency. *Arch Dermatol.* nov 1995;131(11):1274-8.
109. Wiedersberg S, Leopold CS, Guy RH. Bioavailability and bioequivalence of topical glucocorticoids. *Eur J Pharm Biopharm.* mars 2008;68(3):453-66.
110. Kirsch J, Gibson JR, Darley CR, Barth J, Burke CA. Forearm site variation with the corticosteroid vasoconstrictor assay. *Br J Dermatol.* avr 1982;106(4):495.
111. Cornell RC, Stoughton RB. Correlation of the vasoconstriction assay and clinical activity in psoriasis. *Arch Dermatol.* 1 janv 1985;121(1):63-7.
112. Hepburn DJ, Aeling JL, Weston WL. A reappraisal of topical steroid potency. *Pediatr Dermatol.* juin 1996;13(3):239-45.
113. Korting HC. Topical glucocorticoids and thinning of normal skin as to be assessed by ultrasound. *Curr Probl Dermatol.* 1993;21:114-21.
114. Frosch PJ, Behrenbeck EM, Frosch K, Macher E. The Duhring chamber assay for corticosteroid atrophy. *Br J Dermatol.* janv 1981;104(1):57-65.
115. Pelfini C, Vignini M, Calligaro A. Morphometric computerized analysis as a method to assess skin atrophy caused by corticosteroids. *Skin Pharmacol Off J Skin Pharmacol Soc.* 1993;6(1):26-31.

116. Luger TA. Balancing efficacy and safety in the management of atopic dermatitis: the role of methylprednisolone aceponate. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV*. mars 2011;25(3):251-8.
117. Lange K, Gysler A, Bader M, Kleuser B, Korting HC, Schäfer-Korting M. Prednicarbate versus conventional topical glucocorticoids: pharmacodynamic characterization in vitro. *Pharm Res*. déc 1997;14(12):1744-9.
118. Kaidbey KH, Kligman AM. Assay of topical corticosteroids by suppression of experimental inflammation in humans. *J Invest Dermatol*. sept 1974;63(3):292-7.
119. Brasch J, Becker D, Effendy I. Reproducibility of irritant patch test reactions to sodium lauryl sulfate in a double-blind placebo-controlled randomized study using clinical scoring. Results from a study group of the German Contact Dermatitis Research Group (Deutsche Kontaktallergie-Gruppe, DKG). *Contact Dermatitis*. sept 1999;41(3):150-5.
120. Astner S, Gonzalez E, Cheung A, Rius-Diaz F, González S. Pilot study on the sensitivity and specificity of in vivo reflectance confocal microscopy in the diagnosis of allergic contact dermatitis. *J Am Acad Dermatol*. déc 2005;53(6):986-92.
121. Astner S, González S, Gonzalez E. Noninvasive evaluation of allergic and irritant contact dermatitis by in vivo reflectance confocal microscopy. *Dermatitis*. déc 2006;17(4):182-91.
122. Swindells K, Burnett N, Rius-Diaz F, González E, Mihm MC, González S. Reflectance confocal microscopy may differentiate acute allergic and irritant contact dermatitis in vivo. *J Am Acad Dermatol*. févr 2004;50(2):220-8.
123. Staberg B, Serup J. Allergic and irritant skin reactions evaluated by laser Doppler flowmetry. *Contact Dermatitis*. janv 1988;18(1):40-5.
124. Sommer A, Veraart J, Neumann M, Kessels A. Evaluation of the vasoconstrictive effects of topical steroids by laser-Doppler-perfusion-imaging. *Acta Derm Venereol*. janv 1998;78(1):15-8.
125. Serup J, Staberg B. Differentiation of allergic and irritant reactions by transepidermal water loss. *Contact Dermatitis*. mars 1987;16(3):129-32.
126. Jungersted J, Høgh J, Hellegren L, Jemec G, Agner T. Effects of Topical Corticosteroid and Tacrolimus on Ceramides and Irritancy to Sodium Lauryl Sulphate in Healthy Skin. *Acta Derm Venereol*. 2011;91(3):290-4.
127. Ardigò M, Longo C, Cristaudo A, Berardesca E, Pellacani G. Evaluation of allergic vesicular reaction to patch test using in vivo confocal microscopy. *Skin Res Technol*. févr 2012;18(1):61-3.
128. Seidenari S, Di Nardo A. Cutaneous reactivity to allergens at 24-h increases from the antecubital fossa to the wrist: an echographic evaluation by means of a new image analysis system. *Contact Dermatitis*. mars 1992;26(3):171-6.
129. Bruze M, Isaksson M, Dooms-Goossens A. The influence of patch tests with clobetasol propionate on adjacent patch test reactions. *Contact Dermatitis*. mars 1995;32(3):167-70.

130. Burdick KH. Various vagaries of vasoconstriction. *Arch Dermatol.* août 1974;110(2):238-42.
131. Marks JG Jr, Fowler JF Jr, Sheretz EF, Rietschel RL. Prevention of poison ivy and poison oak allergic contact dermatitis by quaternium-18 bentonite. *J Am Acad Dermatol.* août 1995;33(2 Pt 1):212-6.
132. Hicks SP, Swindells KJ, Middelkamp-Hup MA, Sifakis MA, González E, González S. Confocal histopathology of irritant contact dermatitis in vivo and the impact of skin color (black vs white). *J Am Acad Dermatol.* mai 2003;48(5):727-34.
133. Guichard A, Fanian F, Girardin P, Humbert P. Patch test allergologique et eczéma de contact en microscopie confocale. *Ann Dermatol Venereol.* 2014.
134. Mancuso G, Berdondini RM, Cavrini G. Long-lasting allergic patch test reactions: a study of patients with positive standard patch tests. *Contact Dermatitis.* juill 1999;41(1):35-9.
135. Amantea M, Tur E, Maibach HI, Guy RH. Preliminary skin blood flow measurements appear unsuccessful for assessing topical corticosteroid effect. *Arch Dermatol Res.* 1983;275(6):419-20.
136. Staberg B, Serup J. Allergic and irritant skin reactions evaluated by laser Doppler flowmetry. *Contact Dermatitis.* janv 1988;18(1):40-5.
137. Serup J, Agner T. Colorimetric quantification of erythema—a comparison of two colorimeters (Lange Micro Color and Minolta Chroma Meter CR-200) with a clinical scoring scheme and laser-Doppler flowmetry. *Clin Exp Dermatol.* 1 juill 1990;15(4):267-72.
138. Chan SY, Li Wan Po A. Quantitative skin blanching assay of corticosteroid creams using tristimulus colour analysis. *J Pharm Pharmacol.* mai 1992;44(5):371-8.
139. Danby SG, Chittock J, Brown K, Albenali LH, Cork MJ. The effect of tacrolimus compared with betamethasone valerate on the skin barrier in volunteers with quiescent atopic dermatitis. *Br J Dermatol.* avr 2014;170(4):914-21.
140. Sakanashi EN, Matsumura M, Kikuchi K, Ikeda M, Miura H. A comparative study of allergic contact dermatitis by patch test versus reflectance confocal laser microscopy, with nickel and cobalt. *Eur J Dermatol EJD.* déc 2010;20(6):705-11.
141. Benjamin B, Chris F, Salvador G, Melissa G, Susan N. Visual and confocal microscopic interpretation of patch tests to benzethonium chloride and benzalkonium chloride. *Skin Res Technol.* 1 août 2012;18(3):272-7.
142. Yosipovitch G, Goon A, Wee J, Chan YH, Goh CL. The prevalence and clinical characteristics of pruritus among patients with extensive psoriasis. *Br J Dermatol.* nov 2000;143(5):969-73.
143. Tree S, Marks R. An explanation for the « placebo » effect of bland ointment bases. *Br J Dermatol.* févr 1975;92(2):195-8.

144. Cork M. Taking the itch out of eczema: how the careful use of emollients can break the itch-scratch cycle. *Asthma J.* 1999;4:116-20.
145. Barry BW, Woodford R. Activity and Bioavailability of Topical Steroids. in Vivo / in Vitro Correlations for the Vasoconstrictor Test. *J Clin Pharm Ther.* 1 janv 1978;3(1):43-65.
146. Hein R, Korting HC, Mehring T. Differential effect of medium potent nonhalogenated double-ester-type and conventional glucocorticoids on proliferation and chemotaxis of fibroblasts in vitro. *Skin Pharmacol.* 1994;7(5):300-6.
147. Lange K, Kleuser B, Gysler A, Bader M, Maia C, Scheidereit C, et al. Cutaneous inflammation and proliferation in vitro: differential effects and mode of action of topical glucocorticoids. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol.* avr 2000;13(2):93-103.
148. Zulfakar MH, Ong CMY, Heard CM. The effects of betamethasone dipropionate and fish oil on HaCaT proliferation and apoptosis. *Int J Pharm.* 15 sept 2012;434(1-2):399-405.
149. Ponc M, Kempenaar JA. Biphasic entry of glucocorticoids into cultured human skin keratinocytes and fibroblasts. *Arch Dermatol Res.* 1983;275(5):334-44.
150. Korting HC, Hülsebus E, Kerscher M, Greber R, Schäfer-Korting M. Discrimination of the toxic potential of chemically differing topical glucocorticoids using a neutral red release assay with human keratinocytes and fibroblasts. *Br J Dermatol.* juill 1995;133(1):54-9.
151. Wach F, Bosserhoff A, Kurzydym U, Nowok K, Landthaler M, Hein R. Effects of mometasone furoate on human keratinocytes and fibroblasts in vitro. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol.* févr 1998;11(1):43-51.
152. Farkas A, Kemény L, Széll M, Dobozy A, Bata-Csörgo Z. Ethanol and acetone stimulate the proliferation of HaCaT keratinocytes: the possible role of alcohol in exacerbating psoriasis. *Arch Dermatol Res.* juin 2003;295(2):56-62.

Publications - Communications

Publications

1. Chapitre : Etude prospective comparative des propriétés mécaniques de 3 types de greffe de peau par des procédés non-invasifs : Etude préliminaire sur 8 mois et 10 greffes. Pauchot, Guichard, Lihoreau, Elkhyat, Mac-Mary, Humbert. dans le manuel de référence des mesures des propriétés de la peau : Measuring the Skin 2^{ème} Ed. sous presse
2. Effects of topical corticosteroids on cell proliferation, cell cycle progression and apoptosis: in vitro comparison on HaCaT Guichard, Viennet, Muret, Courderot-Masuyer, Humbert. International Journal of Pharmaceutics, soumis en cours de révision.
3. The topical corticosteroid classification called into question: towards a new approach, Humbert and Guichard (co-auteur). Experimental Dermatology, soumis en cours de révision.
4. Quoi de neuf sur le cheveu en 2014 ? Guichard, Dermatol Prat sous presse.
5. Le pseudomonilethrix : un artefact plus qu'une pathologie. Guichard, Puzenat, Fanian, Humbert Ann Dermatol Venereol. révisé sous presse.
6. Comparison of Reflectance Confocal Microscopy and Standardized skin surface biopsy for three different lesions in a pityriasis folliculorum patient, Yuan C, Xue-Min W, Guichard A, Lihoreau T, Mac-Mary S, Khyat L, Ardigo M, Humbert P., BJD. Nov 2014.
7. Patch test allergologique et eczéma de contact en microscopie confocale. Guichard, Fanian, Girardin, Humbert. Ann Dermatol Venereol. Oct 2014.
8. N-palmitoylethanolamine and N-acetyethanolamine are effective in asteatotic eczema: results of a randomized, double-blind, controlled study in 60 patients, Yuan C, Xue-Min W, Guichard A, Yi-Mei T, Chun-Yan Q, Li-Jie Y, Humbert P, Clinical Interventions in Aging 2014;9 1163–1169.
9. Chapitre : Trichogramme, Guichard, Fanian, dans le manuel de référence des mesures des propriétés de la peau : Measuring the Skin 2^{ème} Ed., sous presse.
10. Chapitre : "Skin wettability and friction" Elkhyat, Fanian, Mac-Mary, Guichard, Lihoreau, Jeudy, Humbert, dans le manuel de référence : Handbook of cosmetic science and technology, 4^{ème} Ed, 2013 p337-344.
11. Fer et chute de cheveux, Guichard, Humbert, International Hair Newsletter n°14.
12. Prurit et pemphigus induits par les IEC, Salez, Guichard, Humbert, Dermatol Prat (373), oct 2013

13. Efficacy of micronutrient supplementation on skin aging and seasonal variation : a randomized, placebo-controller, double-blind study, Fanian, Mac-Mary, Jeudy, Lihoreau, Messikh, Ortonne Aned, Sainthillier, Elkhyat, Guichard, Hejazi Kenari, Humbert, Clin Interv Aging. 2013;8:1527-37
14. Chapitre dans l'EMC-Cosmétologie et Dermatologie esthétique, "Mouillabilité de la peau", Elkhyat, Fanian, Guichard, Mac-Mary, Sainthillier, Lihoreau, Jeudy, Humbert, EMC 2013, 50-140-H-10
15. Evaluation of the Effects of Corticosteroids on Histamine Release by ex Vivo Cutaneous Microdialysis, Carol Courderot-Masuyer, Sophie Robin, Hélène Tauzin, Sylvain Harbon, Sophie Mac-Mary, Alexandre Guichard, Patrice Muret, Philippe Humbert, J Cosmet Dermatol Sci Appl 2013, 3 : 228-33.
16. Skin rejecting tattoo ink followed, in vivo, by reflectance confocal microscopy. Guichard A, Agozzino M, Humbert P, Fanian F, Elkhyat A, Ardigò M. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2013 Jun 14.
17. Dermoscopy and confocal microscopy correlates in inflammatory skin conditions, Marina Agozzino, Alexandre Guichard, Marco Ardigò. Expert Rev Dermatol 2013, 8 (3) : 241-8.
18. Quoi de neuf sur le cheveu en 2012 ? Guichard A, Dermatol Prat 2013 (369) avril 2013
19. Recherche fondamentale et cheveu. Guichard A, Dermatol Prat 2013 (370) mai 2013
20. Traitement médical de l'érythrocouperose rosacée, A.Guichard, Ph.Humbert, Medical Staff dermatologie, n°84-juin 2012
21. Le 5 fluoro-uracile dans le traitement des cicatrices chéloïdes, Guichard A, Humbert Ph. Dermatol Prat 2012 (358) : 14-15
22. Hypersensibilité aux dermocorticoïdes, C. Biver-Dalle, A. Guichard, M. Vigan, Ph. Humbert, F.Aubin, Ann Dermatol Venereol. 2012 Jun;139(6-7):489-99.
23. Trucs et astuces concernant les pansements ou comment « panser » à tout, Article site internet de l'Association des dermatologues de Franche-Comté <http://www.asfoder.net>
24. Le moxisylyte (Carlytène®) dans le syndrome de Raynaud, Guichard A, Humbert Ph. Dermatol Prat 2011 (355) : 10
25. Peau et nutrition : éviter les carences en vitamine D, Guichard A, Humbert Ph. Dermatol Prat 2011 (349) : 20-1

26. Mechanical and physical properties of split thickness skin graft, full thickness skin graft and skin graft with dermal substitute. Pauchot J., Lihoreau T., Guichard A., Sainthillier J.M., Vivot A., Elkhayat A., Humbert P. JID (2011) 131, 2143–2154
27. LED et prolifération fibroblastique, Guichard A, Humbert Dermatol. Prat. n°341, juin 2010
28. Etude coût efficacité évaluant l'impact de conseils téléphoniques sur l'observance après le début d'une thérapie chronique Guichard A Québec Pharmacie, vol.56,n°5,sept 2009
29. Revue d'utilisation rétrospective du cisapride dans le traitement du reflux gastro-oesophagien en pédiatrie Guichard J Pharma Clin, vol.28, n°4,oct-nov-dec 2009

Communication orales

1. Anatomie et physiologie du cheveu et du cuir chevelu, XIV Journée d'Echanges Scientifiques et Techniques, Montpellier, 2014
2. Les différentes alopecies et leur classification, XIV Journée d'Echanges Scientifiques et Techniques, Montpellier, 2014
3. Scalp and Hair Biometrology, a Pragmatic Review, The 20th Annual Meeting of Chinese Society of Dermatology, Hangzhou (Chine), 2014
4. Features of Contact Dermatitis in Reflectance Confocal Microscopy et Skin Rejecting Tattoo Ink Followed by Reflectance Confocal Microscopy, posters présentés oralement lors du congrès international de l'International Society for Biophysics and Imaging of the Skin, Milan, 2013
5. Documentaire télévisé : « Les cheveux et poils dans l'évolution de l'homme ». Chaîne télévisée Encyclo TV. Diffusé jeudi 25 avril et vendredi 26 avril 2013. Réalisé par Mathieu Saintenac.
6. Critères diagnostics de l'eczéma de contact par microscopie confocale in vivo, Forum des Jeunes Chercheurs, Dijon, 2013
7. Pharmacologie des glucocorticoïdes, Journées Max Bourgeois, Besançon, 2013
8. Biométrie du cuir chevelu, Deuxièmes Journées interuniversitaires franco-marocaines de dermatologie médico-chirurgicale (présentation des techniques de bio-ingénierie permettant de mesurer l'état du cuir chevelu et de la tige pileuse), Besançon, 2012
9. Hypersensibilité aux Dermocorticoïdes, Journées Max bourgeois, Besançon, 2012
10. Cosmétovigilance : Analyse rétrospective de l'expérience franc-comtoise et comparaison avec le fichier national. Congrès national d'allergologie : GERDA, Besançon 2012

11. La tomographie à cohérence optique et ses applications en dermatologie. Diplôme Inter-Universitaire « Photomédecine et Lasers Médicaux », Nîmes, 2012
12. Live demonstration of in vivo skin imaging apparatus : Optical coherence tomography system, European Academy of Dermatology and Venereology Congress, Gothenburg (Suède), 2010

Posters

1. Scalp and Hair Biometrology, a Pragmatic Review, Guichard, Fanian, Humbert, World Congress of Hair Research, Jeju (South Korea), 2014
2. Pseudomonilethrix, an artifact, not a pathology. Guichard, Puzenat, Fanian, Humbert, World Congress of Hair Research, Jeju (South Korea), 2014
3. Features of Contact Dermatitis in Reflectance Confocal Microscopy, Guichard Alexandre, Ardigo Marco , Fanian Ferial, Girardin Pascal, Lihoreau Thomas, Elkhyat Ahmed , Humbert Philippe, International Society for Biophysics and Imaging of the Skin, Milan, 2013.
4. Evaluation of skin pigmentation due to long-term minocycline consumption with several diagnostic techniques: confocal microscopy, colorimetry, mexametry, SSA® imaging system and histopathologic study- A case report. Fanian F, Lihoreau T, Guichard A, Pellacani G, Humbert Ph. International Society for Biophysics and Imaging of the Skin, Milan, 2013.
5. Skin Rejecting Tattoo Ink Followed by Reflectance Confocal Microscopy, Guichard Alexandre, Agozzino Marina, Humbert Philippe, Fanian Ferial, Elkhyat Ahmed, Ardigo Marco, International Society for Biophysics and Imaging of the Skin, Milan, 2013.
6. Cosmétovigilance : Analyse rétrospective de l'expérience franc-comtoise et comparaison avec le fichier national. Guichard A, Thanacody B, Vigan M, Girardin P, Humbert Ph, Journées Dermatologiques de Paris, Paris, 2012 + Congrès national d'allergologie : GERDA, Besançon, 2012.
7. Pentylène Glycol, un allergène en croissance? Guichard A, Girardin P, Humbert Ph Journées Dermatologiques de Paris, Paris, 2010.
8. Biometrological evaluation of three skin graft models, Guichard A., Pauchot J., Mac-Mary S., Sainthillier JM., Lihoreau T., Jeudy A., Humbert Ph. International Society for Biophysics and Imaging of the Skin, Buenos Aires, 2010 + World Congress of dermatology, Seoul, 2011 + European Academy of Dermatology and Venereology Congress, Lisbonne, 2011.

9. Skin sebum excretion and sleep apnea syndrome. Lihoreau T., Vidal C, Jeudy A., Try C., Guichard A., Elkhyat A., Mac-Mary S., Sainthillier JM., Iung J, Bourdin H, Humbert Ph. International Society for Biophysics and Imaging of the skin (ISBS) “New insights on the visible and the invisible skin”, Buenos Aires, 2010.
10. Biometrological assessment of sweat secretion. Efficacy of oral oxybutynin in primary hyperhidrosis. Try C., Messikh R., Elkhyat A., Sainthillier JM., Baud M., Guichard A., Lihoreau T., Lboutounne Y., Nicod L., Mac-Mary S., Jeudy A., Humbert Ph. International Society for Biophysics and Imaging of the skin (ISBS) “New insights on the visible and the invisible skin”, Buenos Aires, 2010.
11. Efficacy of oral oxybutynin in primary hyperhidrosis, Try C, Messikh R, Elkhyat A, Sainthillier JM, Baud M, Guichard A, Lihoreau T, Lboutounne Y, Nicod L, Mac-mary S, Jeudy A, Humbert Ph, International Society for Biophysics and Imaging of the skin (ISBS) “New insights on the visible and the invisible skin”, Buenos Aires, 2010.
12. Confocal microscopy study on skin of patients affected with nephrologic diseases. Lihoreau T., Binda D., Sainthillier JM., Jeudy A., Guichard A., Try C., Elkhyat A., Mac-Mary S., De Luca A., Burcez C., Chalopin JM., Humbert Ph. International Society for Biophysics and Imaging of the skin (ISBS) “New insights on the visible and the invisible skin”, Buenos Aires, 2010.



Disponible en ligne sur
ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com



FICHE THÉMATIQUE / MICROSCOPIE CONFOCALE PAR RÉFLECTANCE

Patch test allergologique et eczéma de contact en microscopie confocale

Allergic patch test and contact dermatitis by in vivo reflectance confocal microscopy

A. Guichard^{a,b}, F. Fanian^{a,b}, P. Girardin^a,
P. Humbert^{a,*,b}

^a Service de dermatologie, université de Franche-Comté, CHRU de Besançon, 3, boulevard Fleming, 25030 Besançon, France

^b Centre d'études et de recherche sur le tégument, centre d'investigation clinique (CIC BT506), Inserm UMR1098, FED4234 IBCT, 25030 Besançon cedex, France

Reçu le 16 juin 2014 ; accepté le 23 septembre 2014

Observation

Une patiente de 46 ans était adressée pour suspicion d'allergie de contact au Nickel. Des patch tests ont été réalisés selon les recommandations de l'International Contact Dermatitis Research Group (ICDRG) et lus après 72 h. Cliniquement, la réaction était positive (+++) selon la cotation ICDRG avec présence d'un érythème, d'un œdème, de vésicules coalescentes et d'un prurit (Fig. 1).

Microscopie confocale par réflectance

Un examen en microscopie confocale (MC) (Vivascope 1500[®]; Lucid Inc, Rochester, NY, États-Unis) a été réalisé pour évaluer les caractéristiques d'un eczéma de contact en MC. Il a mis en évidence la présence d'un œdème, de vésicules, de leucocytes et d'une vasodilatation.

L'œdème en MC, qui correspond à la spongiose en histologie, est visible au niveau des stratum granulosum (SG) et spinosum (SS). Il est caractérisé par des zones sombres (dû à l'exsudation) associées à une augmentation de la brillance intercellulaire et à un épaississement de l'espace inter-kératinocytaires dû à l'œdème intercellulaire ; les kératinocytes paraissent « gonflés » comme une éponge (Fig. 2). L'extension de l'œdème peut être évaluée à l'aide des images empilées obtenues par le mode « Stack » du MC, permettant de calculer sa profondeur intraépidermique à partir du nombre et de l'espacement connu entre chacune des images. Lorsque l'œdème est important, les images des couches même superficielles sont floues et sombres.

Les vésicules apparaissent comme des structures ovoïdes ou rondes à bords nets de contenu sombre (hyporéflétant) et homogène, des leucocytes y sont présents en quantité variable (Fig. 2).

Les leucocytes apparaissent comme des éléments ronds, de réflectance élevée et d'un diamètre de 8 à 10 µm présents, soit au niveau intra-vésiculaire, soit inter-kératinocytaires où ils peuvent prendre une forme dendritique (Fig. 2). La détermination du type de leucocytes n'est pas possible en MC.

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : philippe.humbert@univ-fcomte.fr (P. Humbert).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.annder.2014.09.028>
0151-9638/© 2014 Publié par Elsevier Masson SAS.

Pour citer cet article : Guichard A, et al. Patch test allergologique et eczéma de contact en microscopie confocale. Ann Dermatol Venereol (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.annder.2014.09.028>



Figure 1. Aspect clinique et dermoscopique d'un eczéma de contact, 72 h après la pose d'un patch test au Nickel 5 % dans la vaseline.

Formation médicale continue

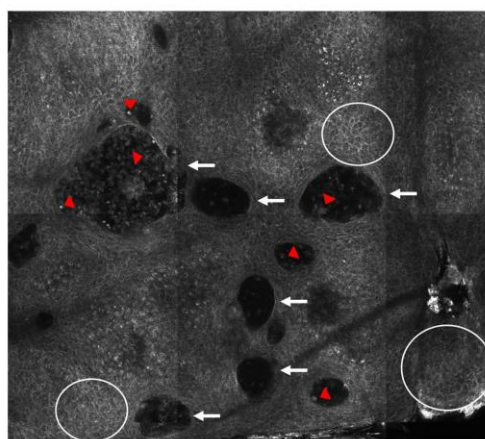


Figure 2. Examen en microscopie confocale de la lésion d'eczéma de contact. Les vésicules (flèches blanches) contiennent plus au moins de leucocytes (têtes de flèches rouges). La spongiose (cercles blancs) est présente sur la quasi-totalité de la zone.

La vasodilatation, en MC, se caractérise par des vaisseaux de gros calibres, plus nombreux, plus superficiels, avec un flux sanguin bien identifiable contrairement à la peau saine où le flux est plus flou.

Ces aspects sont typiques de l'eczéma aigu et, de fait, d'un patch test positif.

Aucun examen histologique n'a été nécessaire. Néanmoins, ce dernier aurait montré, de la même manière, une vasodilatation et une spongiose épidermique avec exsudation aboutissant généralement à la formation de vésicules spongiotiques, associée à une infiltration leucocytaire avec une détermination du type cellulaire impliqué (neutrophile et/ou éosinophile).

Commentaires

Le patch test est une procédure diagnostique d'allergologie consistant à apposer sur la peau une substance en occlusion pendant 48 h afin de reproduire, chez le sujet sensibilisé, un eczéma d'intensité réduite. L'évaluation visuelle de la réaction tente d'estimer la nature allergique et/ou irritative de la réaction observée.

Des critères de l'allergie de contact en MC ont été décrits avec précision depuis ces dix dernières années et ont été corrélés à l'histologie par Gonzales et al. [1]. Les études

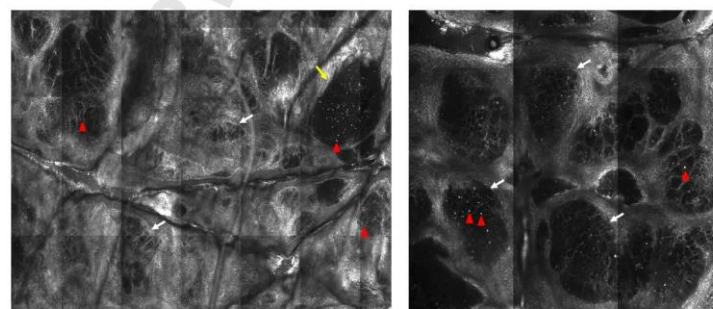


Figure 3. Examen en microscopie confocale de la lésion d'eczéma de contact à j7 après la pose du patch test. La plupart des vésicules se sont atrophiées et « desséchées » (flèches blanches), alors que quelques vésicules subsistent (flèche jaune). Les leucocytes (têtes de flèches rouges) sont toujours présents.

Pour citer cet article : Guichard A, et al. Patch test allergologique et eczéma de contact en microscopie confocale. Ann Dermatol Venereol (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.annder.2014.09.028>

portaient principalement sur la distinction entre l'allergie de contact et l'irritation de contact, parfois difficile à affirmer sur de simples arguments cliniques. Plusieurs équipes ont établi des valeurs de sensibilité et de spécificité de certains critères de MC pour distinguer ces deux phénomènes [2–5]. Ainsi, les critères sensibles de l'allergie de contact étaient la présence d'un grand nombre de vésicules associée à un stratum corneum le plus souvent intact. Alors que, dans une réaction d'irritation, on retrouve plutôt une parakératose, un épaississement de l'épiderme et un détachement de cornéocytes. Dans les deux phénomènes, l'œdème et la vasodilatation sont présents.

Ces critères ont aussi permis d'objectiver la plus grande résistance des peaux noires aux irritants de contact tel que le sodium lauryl sulfate [4,6]. Ces travaux démontrent l'importance de l'imagerie cutanée non invasive dans la détection de l'inflammation parfois cliniquement invisible en particulier sur les peaux foncées.

Une autre difficulté en allergologie est l'aspect clinique parfois atypique de certains patch tests ne permettant pas d'écarter formellement une réaction allergique. La MC devient alors un outil d'aide au diagnostic précieux car elle permet de détecter rapidement et avec précision des critères de l'inflammation cliniquement absents comme une infiltration leucocytaire ou une spongieuse mineures.

La MC permet enfin le suivi évolutif de la lésion après la poussée d'eczéma de contact qui s'observe par :

- une re-visualisation des structures profondes comme les papilles dermiques marginées, le derme superficiel et les fibres de collagène, du fait de la diminution de l'œdème ;
- une régression des vésicules par migration ou atrophie (Fig. 3) entraînant la diminution de leur nombre ;
- une diminution du calibre des vaisseaux et un débit sanguin ralenti et plus flou ;
- des kératinocytes à bords plus nets ;
- la régression de la spongieuse et de l'infiltrat leucocytaire.

Conclusion

L'évaluation microscopique de ce patch test franchement positif permet de décrire avec précision tous les critères

d'une réaction d'eczéma de contact aigu typique, en MC in vivo. En pratique clinique, la MC apporte un réel soutien diagnostique à l'allergologue surtout dans les situations complexes, notamment lors de patch test douteux ou sur peaux foncées. Elle donne aussi la possibilité de détecter plus précocement la positivité d'un test et permet, d'autre part, de discriminer la réaction allergique de la réaction irritative plus précisément que l'examen clinique. De plus, dans le cadre de l'eczéma de contact, la MC permet de suivre l'efficacité thérapeutique. Enfin, par son approche non invasive et non traumatique, la MC rend possible l'analyse itérative d'un même site.

Déclaration d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

Références

- [1] González S, González E, White WM, Rajadhyaksha M, Anderson RR. Allergic contact dermatitis: correlation of in vivo confocal imaging to routine histology. *J Am Acad Dermatol* 1999;40:708–13.
- [2] Astner S, Gonzalez E, Cheung A, Rius-Diaz F, González S. Pilot study on the sensitivity and specificity of in vivo reflectance confocal microscopy in the diagnosis of allergic contact dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 2005;53:986–92.
- [3] Swindells K, Burnett N, Rius-Diaz F, González E, Mihm MC, González S. Reflectance confocal microscopy may differentiate acute allergic and irritant contact dermatitis in vivo. *J Am Acad Dermatol* 2004;50:220–8.
- [4] Astner S, González S, Gonzalez E. Noninvasive evaluation of allergic and irritant contact dermatitis by in vivo reflectance confocal microscopy. *Dermatitis* 2006;17:182–91.
- [5] Ardigo M, Longo C, Cristaudo A, Berardesca E, Pellacani G. Evaluation of allergic vesicular reaction to patch test using in vivo confocal microscopy. *Skin Res Technol* 2012;18:61–3.
- [6] Hicks SP, Swindells KJ, Middelkamp-Hup MA, Sifakis MA, González E, González S. Confocal histopathology of irritant contact dermatitis in vivo and the impact of skin color (black vs white). *J Am Acad Dermatol* 2003;48:727–34.



Disponible en ligne sur
SciVerse ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com



CLINIQUE

Hypersensibilité aux dermocorticoïdes

Hypersensitivity to topical steroids

C. Biver-Dalle^{a,b}, A. Guichard^{a,b}, M. Vigan^{a,b},
 P. Humbert^{a,b,c}, F. Aubin^{a,*,b,d}

^a Université de Franche-Comté, 1, rue Claude-Goudimel, 25000 Besançon, France

^b Service de dermatologie, centre hospitalier universitaire, 2, place Saint-Jacques, 25030 Besançon cedex, France

^c Inserm U1098, 25030 Besançon cedex, France

^d EA3181, 25030 Besançon cedex, France

Reçu le 23 décembre 2011 ; accepté le 16 mars 2012

Disponible sur Internet le 26 mai 2012

Les dermocorticoïdes sont de puissants anti-inflammatoires et immunomodulateurs utilisés dans le traitement des manifestations allergiques au sens large. Paradoxalement, ils peuvent être à l'origine de véritables réactions d'hypersensibilité particulières par leur présentation clinique peu spécifique et l'interprétation des tests diagnostiques souvent difficile conduisant à une méconnaissance de ce type d'allergie par de nombreux cliniciens.

Structure chimique de base des corticostéroïdes

La structure chimique de base des corticostéroïdes [1] est formée par un noyau cyclo-pentano-perhydro-phénanthrène, rassemblant trois cycles hexane avec six atomes de carbone (cycles ou noyaux A, B, C) et un cycle pentane avec cinq atomes de carbone (cycle ou noyau D) (Fig. 1). C'est sur ce cycle pentane que vont venir se greffer différentes fonctions, notamment la fonction hydroxyle en C17, créant ainsi les 17 hydroxycorticostéroïdes tels que l'hydrocortisone, qui

est la structure de base à l'origine de l'activité glucocorticoïde.

À partir de la structure moléculaire de l'hydrocortisone, l'industrie pharmaceutique a cherché à réaliser des modifications chimiques et structurales pour améliorer la pénétration cutanée des dermocorticoïdes, retarder leur dégradation enzymatique et augmenter leur affinité pour les récepteurs cytosoliques. Parmi ces modifications possibles, citons une possible double liaison entre C1 et C2 [2], une halogénéation de la molécule (ajout d'un groupe fluor ou chlore en C6/C9), une substitution méthyle en C16, hydroxyle en C16/C17, un lien acétone entre C16 et C17, une estérification de C17 ou C21. Mais l'amélioration des qualités pharmacologiques des dermocorticoïdes a aussi modifié leur immunogénicité.

Historique et fréquence

En 1948 sont mises en évidence les propriétés thérapeutiques des corticostéroïdes par Hench et al. [3]. Sulzberger et Witten [4] décrivent en 1950 les propriétés anti-inflammatoires et antiprolifératives de l'hydrocortisone, principale hormone glucocorticoïde naturelle, dans les affections cutanées. Les premiers cas d'allergie aux dermo-

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : francois.aubin@univ-fcomte.fr (F. Aubin).

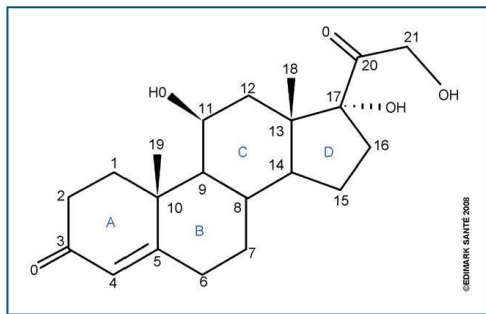


Figure 1. Structure chimique de l'hydrocortisone.

corticoides avec l'hydrocortisone sont rapportés dix ans plus tard [5].

La fréquence de ces réactions d'hypersensibilité aux dermocorticoïdes est variable selon les séries et les pays, mais est estimée en France autour de 3,4% des eczémas et entre 0,2 et 5% des patients testés par patch-tests [2].

Voies de sensibilisation aux corticostéroïdes et facteurs favorisants

Malgré la grande diversité des voies d'administration (locale/intraveineuse/inhalée/digestive/intra-articulaire), la voie de sensibilisation la plus fréquente est la voie cutanée.

Lors d'une réaction à un corticostéroïde administré par voie systémique, il est possible d'y avoir été sensibilisé au préalable par une molécule chimiquement apparentée utilisée par voie topique et vice versa, par l'intermédiaire de phénomènes de réactions croisées.

Il ne faut pas par ailleurs oublier les cas d'eczéma de contact aux dermocorticoïdes aéroportés ou par procura-tion.

Les facteurs favorisant la sensibilisation aux dermocorticoïdes sont exposés sur la Fig. 2 [2,6,7].

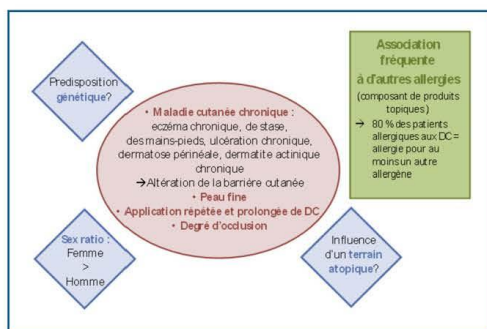


Figure 2. Facteurs favorisant la sensibilisation aux dermocorticoïdes.

Potentiel allergénique des dermocorticoïdes

La principale voie de sensibilisation dans l'allergie aux dermocorticoïdes est une hypersensibilité retardée, de type IV selon Gell et Coombs. Le potentiel allergénique des dermocorticoïdes va dépendre de facteurs propres à la molécule, à l'origine de son immunogénicité, et des caractéristiques intrinsèques de l'individu, comme exposé sur la Fig. 3.

La pénétration cutanée du dermocorticoïde et son degré d'exposition aux cellules immunocompétentes vont varier selon :

- le véhicule utilisé ;
- la concentration du dermocorticoïde ;
- le caractère lipophile de la molécule ;
- le mode d'application ;
- la localisation et l'état de la peau traitée ;
- la répétition des applications ;
- l'occlusion, à l'origine d'une augmentation du pH cutané, qui va certes augmenter la pénétration du dermocorticoïde, mais aussi majorer en conséquence le risque de sensibilisation ;
- l'âge du patient.

Le métabolisme cutané du dermocorticoïde varie en fonction des constituants moléculaires du cycle ou noyau D (Fig. 1) et de l'existence de phénomènes d'halogénéation, qui vont orienter le profil des réactions croisées. La biotransformation des dermocorticoïdes, notamment l'hydrolyse de la fonction ester, est indispensable pour obtenir une activité biologique suffisante. Elle va directement dépendre de la stabilité et de la taille de l'ester (positionné en C21, il est plus instable, donc dit ester « labile » qu'en C17), des conditions dans lesquelles le produit est conservé et de l'équipement enzymatique du malade. Il existe par ailleurs de possibles conversions non enzymatiques (ex. : molécule avec mono-ester en C17 + groupe hydroxyle libre en C21 = instable → conversion non enzymatique en C21 mono-ester). À cela va s'ajouter la nécessité de liaison aux protéines de la peau selon différents mécanismes.

Il est donc important de comprendre que l'allergène qui déclenche la réaction immunitaire est généralement le métabolite du dermocorticoïde. Par conséquent, les dermocorticoïdes rapidement métabolisés dans la peau auront d'avantage tendance à déclencher des réactions allergiques.

L'existence de réactions croisées a été suggérée par le fait qu'un patient sensibilisé a souvent des tests positifs pour plusieurs corticostéroïdes, même s'il n'y a jamais été exposé au préalable. Elles doivent donc être différenciées d'une sensibilisation concomitante ou d'une réaction croisée entre dermocorticoïdes et stéroïdes sexuels (dermatite auto-immune à la progestérone [8]).

Les phénomènes de réactions croisées ont conduit à l'élaboration de classifications des hypersensibilités aux corticostéroïdes.

Classification des hypersensibilités aux corticostéroïdes et réactions croisées

En 1989, Coopman et al. [9] ont défini quatre groupes allergéniques de réactions croisées A, B, C et D, basées sur

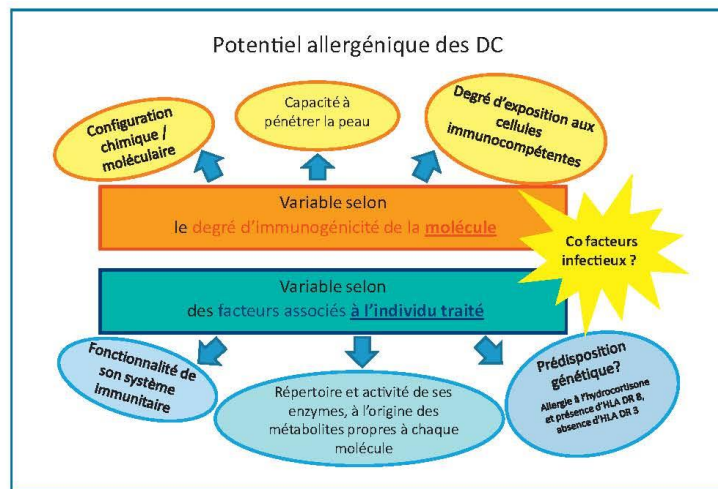


Figure 3. Potentiel allergénique des dermocorticoides.

l'observation de réactions cutanées préférentielles entre certains dermocorticoides puis étayées par les analogies moléculaires essentiellement du cycle D.

En 1995, Lepoittevin et al. [10] apportaient des preuves complémentaires d'une base structurale aux réactivités croisées entre corticostéroïdes, avec des structures moléculaires très homogènes au sein de groupes A, B et D. Cependant, il n'existe pas de caractéristiques stéréochimiques spécifiques du groupe C. Le budésonide, quant à lui, est un cas particulier car sa fonction « acétal » lui confère la particularité de ressembler aux groupes B et D.

En 2000, Matura et Goossens [11] confirmaient les quatre grandes familles de corticostéroïdes, avec subdivision du groupe D en D1 et D2 en raison de leur comportement allergénique différent (Tableau 1).

En 2009, Baeck et al. [6] ont proposé un ajustement de cette classification, suite à l'observation d'une série de 315 patients allergiques aux corticostéroïdes, en subdivisant le groupe C en molécules estérifiées et non estérifiées, et en insistant sur la position particulière du budésonide, à la frontière entre plusieurs groupes (Tableau 2).

Les réactions croisées surviennent de façon préférentielle au sein d'un même groupe. Elles sont en partie expliquées par des analogies structurales moléculaires ou des voies métaboliques communes, mais non de manière exclusive, comme l'illustrent les phénomènes de réactions croisées entre dermocorticoides de groupes différents (A et D2, B et D2). Cependant, la classification ABCD ne permet pas d'expliquer l'ensemble des réactions croisées constatées entre différents dermocorticoides. De plus, l'existence du groupe C n'est pas expliquée par l'analyse purement structurale des corticostéroïdes en faisant partie. En conséquence, d'autres facteurs étiologiques de réactions croisées ont été évoqués :

- Wilkinson et al. [7] ont formulé l'hypothèse qu'il existerait moins de réactions allergiques avec les dérivés halogénés. Néanmoins, la réactivité fréquente des dérivés du groupe B porteurs de ces substitutions halogénées (amcinonide, triamcinolone, triamcinolone acétonide) va à l'encontre de cette théorie ;
- l'hypothèse de système enzymatique d'hydrolyse « hyper » puissante a été suggérée, à l'origine d'une transformation en conséquence de tous les corticostéroïdes en hydrocortisone. Dans le contexte d'une sensibilisation à l'hydrocortisone, cela pourrait aboutir à une hypersensibilité à l'ensemble des corticostéroïdes de synthèse [2,12].

En conséquence, en 2011, Baeck et al. [13] ont étudié la relation entre la structure moléculaire et les charges électrostatiques des corticostéroïdes et leur réactivité immunologique. Selon ces auteurs, une méthylation du corticostéroïde en C16 ainsi qu'un substitut fluor pour les corticostéroïdes du groupe A, C et D1 diminueraient le nombre de réactions au patch-test. Deux profils de patients avec probablement différents sites de reconnaissance immunitaire sont distingués : les sujets réagissant vis-à-vis d'une molécule d'un seul groupe et les sujets réagissant vis-à-vis du spectre entier des corticostéroïdes. Une classification en trois groupes, selon leur structure moléculaire, a été proposée par les auteurs :

- groupe 1 : les corticostéroïdes non méthylés en C16 et le plus souvent non halogénés (A, D2, budésonide) ;
- groupe 2 : les corticostéroïdes halogénés avec une structure *cis* kétal ou diol en C16/17 (B) ;
- groupe 3 : les corticostéroïdes halogénés et méthylés en C16 (C, D1).

La classification simplifiée ainsi proposée distingue les patients réactifs vis-à-vis d'un seul groupe (en majorité le groupe 1) des patients réactifs au squelette général des corticostéroïdes, et par conséquent généralement réactifs à

Tableau 1 Classification ABCD actuelle des corticostéroïdes en fonction de leur potentiel allergénique selon Matura et Goossens [11], restreinte aux molécules disponibles en France, avec le nom de la spécialité.

Groupe	Spécialités disponibles en France (DCI)	Réactions croisées
A	Adixone ^{®b} (fludrocortisone acétate)	Fludrocortisone AP-HP ^{®b} (fludrocortisone acétate)
	Aphilan ^{®a} (hydrocortisone)	Hydrocortancyl ^{®b} (prednisolone)
	Bacicoline ^{®b} (hydrocortisone)	Hydrocortisone ^{®a} (hydrocortisone)
	Calmicort ^{®a} (hydrocortisone)	Medrol ^{®b} (méthylprednisolone acétate)
	Colofoam ^{®a} (hydrocortisone)	Méthylprednisolone ^{®b} (méthylprednisolone acétate)
	Cortancyl ^{®b} (prednisone)	Onctose hydrocortisone ^{®a} (hydrocortisone)
	Cortapaisyl ^{®a} (hydrocortisone)	Panotile ^{®b} (fludrocortisone acétate)
	Cortisal ^{®a} (prednisolone)	Pivalone ^{®b} (tixocortol pivalate)
	Cortisedermil ^{®a} (hydrocortisone)	Predforte ^{®b} (prednisolone)
	Deliproct ^{®a} (prednisolone)	Prednisolone ^{®b} (prednisolone)
	Depomedrol ^{®b} (méthylprednisolone acétate)	Prednisone ^{®b} (prednisone)
	Derinox ^{®b} (prednisolone)	Septomixine pate dentaire ^{®b} (hydrocortisone)
	Dermofenac ^{®a} (hydrocortisone)	Solumedrol ^{®b} (méthylprednisolone acétate)
	Deturgylone ^{®b} (prednisolone)	Solupred ^{®b} (prednisolone)
	Flucon ^{®b} (fluorométholone)	Thiovalone ^{®b} (tixocortol pivalate)
B	Antibio Synalar ^{®b} (fluocinolone acétonide)	Miflonil ^{®b} (budésonide)
	Budésonide ^{®b} (budésonide)	Nasacort ^{®b} (triamcinolone)
	Cidermex ^{®b} (triamcinolone)	Nasalide ^{®b} (flunisolide)
	Cirkan ^{®b} (désoside)	Novoplumon ^{®b} (budésonide)
	Entocort ^{®b} (budésonide)	Pevisone ^{®a} (triamcinolone)
	Hexatrione ^{®b} (triamcinolone)	Pulmicort ^{®b} (budésonide)
	Kenacort ^{®b} (triamcinolone)	Rafton ^{®b} (budésonide)
	Localone ^{®a} (triamcinolone)	Rhinocort ^{®b} (budésonide)
	Locapred ^{®a} (désoside)	Symbicort ^{®b} (budésonide)
	Locatop ^{®a} (désoside)	Tridesonit ^{®a} (désoside)
C	Alkocortenbioform ^{®a} (fluméthasone pivalate)	Framyxone ^{®b} (dexaméthasone sodium phosphate)
	Alkosalen ^{®a} (fluméthasone pivalate)	Maxidex ^{®b} (dexaméthasone)
	Alkotar ^{®a} (fluméthasone pivalate)	Maxidrol ^{®b} (dexaméthasone)
	Auricularum ^{®b} (dexaméthasone sodium phosphate)	Mepacyl ^{®b} (dexaméthasone acétate)
	Bétaméthasone ^{®b} (bétaméthasone)	Neodex ^{®b} (dexaméthasone acétate)
	Betnesol ^{®b} (bétaméthasone sodium phosphate)	Nerisalic ^{®a} (diflucortolone valérate)
	Celestamine ^{®b} (bétaméthasone)	Nerisone ^{®a} (diflucortolone valérate)
	Celestene ^{®b} (bétaméthasone)	Ozurdex ^{®b} (dexaméthasone)
	Chibro-Cadron ^{®b} (dexaméthasone sodium phosphate)	Percutalgine ^{®a} (dexaméthasone)
	Dectancy ^{®b} (dexaméthasone acétate)	Polydexa ^{®b} (dexaméthasone)
	Dexafree ^{®b} (dexaméthasone sodium phosphate)	Sterdex ^{®b} (dexaméthasone)
	Dexagrane ^{®b} (dexaméthasone sodium phosphate)	Tobradex ^{®b} (dexaméthasone)
	Dexsol ^{®b} (dexaméthasone sodium phosphate)	Ultraproct pom ^{®a} (fluocortolone)

Tableau 1 (Suite)			
Groupe	Spécialités disponibles en France (DCI)		Réactions croisées
D1	Diprostene ^{a,b} (bétaméthasone sodium phosphate)	Ultraproct suppo ^{a,b} (fluocortolone)	Pas de réactions avec les autres groupes
	Frakidex ^{a,b} (dexaméthasone sodium phosphate)		
	Asmabec ^{a,b} (béclométasone dipropionate)	Diprolene ^a (bétaméthasone dipropionate)	
	Beclorhino ^{a,b} (béclométasone dipropionate)	Diprosalic ^a (bétaméthasone dipropionate)	
	Beclojet ^{a,b} (béclométasone dipropionate)	Diprosone ^a (bétaméthasone dipropionate)	
	Béclométasone ^{a,b} (béclométasone dipropionate)	Diprostene ^{a,b} (bétaméthasone dipropionate)	
	Beclospin ^{a,b} (béclométasone dipropionate)	Ecobec ^{a,b} (béclométasone dipropionate)	
	Beclospray ^{a,b} (béclométasone dipropionate)	Flixonase ^{a,b} (fluticasone propionate)	
	Beconase ^{a,b} (béclométasone dipropionate)	Flixotide (diskus) ^{a,b} (fluticasone propionate)	
	Becotide ^{a,b} (béclométasone dipropionate)	Flixovate ^a (fluticasone propionate)	
	Bemedrex ^{a,b} (béclométasone dipropionate)	Humex ^{a,b} (béclométasone dipropionate)	
	Betesil ^a (bétaméthasone 17-valérate)	Innovair ^{a,b} (béclométasone dipropionate)	
	Betneval ^a (bétaméthasone 17-valérate)	Miflason ^{a,b} (béclométasone dipropionate)	
	Buccobet ^{a,b} (bétaméthasone 17-valérate)	Nasonex ^{a,b} (mométasone furoate)	
	Celestoderm relais ^a (bétaméthasone 17-valérate)	Qvar autohaler ^{a,b} (béclométasone dipropionate)	
	Clarelux ^a (clobétasol propionate)	Qvarspray ^{a,b} (béclométasone dipropionate)	
	Clobex ^a (clobétasol propionate)	Rhinomaxil ^{a,b} (béclométasone dipropionate)	
	Daivobet ^a (bétaméthasone dipropionate)	Seretide (diskus) ^{a,b} (fluticasone propionate)	
	Dermoval ^a (clobétasol propionate)	Xamiol ^a (bétaméthasone dipropionate)	
D2	Efficort ^a (hydrocortisone acéponate)	Locoid ^a (hydrocortisone 17-butyrate)	A et budésonide (isomère S)
	Epitopic ^a (difluprednate)		

^a Forme topique.

^b Autre forme.

plusieurs groupes par réaction croisée (Tableau 3). Elle est actuellement en cours de validation.

À l'heure actuelle, dans la pratique courante, la classification ABCD reste celle utilisée pour les tests allergologiques, avec pour chaque groupe, un chef de file.

Marqueurs d'allergie par groupe

Dans le groupe A, dont le chef de file est l'hydrocortisone, le marqueur d'allergie est le pivalate de tixocortol (Fig. 4).

Dans le groupe B, dont le chef de file est l'acétonide de triamcinolone, le budésonide est à l'origine des réactions les plus fréquentes. Un sujet peut se sensibiliser par l'application locale d'acétonide de triamcinolone ou d'amcinonide et avoir une réaction plus marquée au patch-test avec le budésonide, par le biais des phénomènes de réactions croisées, et confirmer ainsi sa sensibilisation vis-à-vis des molécules du groupe B (Fig. 5).

Le groupe C, dont le chef de file est la bétaméthasone, est rarement responsable d'allergie de contact.

Tableau 2 Schéma simplifié de la classification ajustée de Baeck et al. [6].			
Groupe	Spécialités disponibles en France (DCI)		Réactions croisées
A	Adixone ^{®b} (fludrocortisone acétate)	Hydrocortisone ^{®a} cr (hydrocortisone)	B via budésouide
	Aphilan ^{®a} (hydrocortisone)	Hydrocortisone ^{®b} inj/cp (hydrocortisone)	
	Bacicoline ^{®b} (hydrocortisone)	Locoid ^{®a,c} (hydrocortisone 17-butyrate)	
	Budésouide ^{®b,c} (budésouide)	Medrol ^{®b,c} (méthylprednisolone acétate)	
	Calmicort ^{®a} (hydrocortisone)	Méthylprednisolone ^{®b} (méthylprednisolone acétate)	
	Colofoam ^{®a} (hydrocortisone)	Miflonil ^{®b,c} (budésouide)	
	Cortancyl ^{®b} (prednisone)	Novoplumon ^{®b,c} (budésouide)	
	Cortapaisyl ^{®a} (hydrocortisone)	Onctose hydrocortisone ^{®a,c} (hydrocortisone)	
	Cortisal ^{®a} (prednisolone)	Panotile ^{®b} (fludrocortisone acétate)	
	Cortisedermyl ^{®a} (hydrocortisone)	Pivalone ^{®b} (tixocortol pivalate)	
	Deliproct ^{®a} pom (prednisolone)	Predforte ^{®b} (prednisolone)	
	Deliproct ^{®b} sup (prednisolone)	Prednisolone ^{®b} (prednisolone)	
	Depomedrol ^{®b} (méthylprednisolone acétate)	Prednisone ^{®b} (prednisone)	
	Derinox ^{®b} (prednisolone)	Pulmicort ^{®b,c} (budésouide)	
	Dermofenac ^{®a} (hydrocortisone)	Rafton ^{®b,c} (budésouide)	
	Deturgylone ^{®b} (prednisolone)	Rhinocort ^{®b,c} (budésouide)	
	Efficort ^{®a,c} (hydrocortisone acéponate)	Septomixine pate dentaire ^{®b} (hydrocortisone)	
	Entocort ^{®b,c} (budésouide)	Solumedrol ^{®b} (méthylprednisolone acétate)	
	Epitopic ^{®a,c} (difluprednate)	Solupred ^{®b} (prednisolone)	
	Flucon ^{®b} (fluorométholone)	Symbicort ^{®b,c} (budésouide)	
	Fludrocortisone AP-HP ^{®b} (fludrocortisone acétate)	Thiovalone ^{®b} (tixocortol pivalate)	
	Hydrocortancyl ^{®b} (prednisolone)		
B	Antibio Synalar ^{®b} (fluocinolone acétonide)	Locapred ^{®a} (désouide)	A via budésouide C
	Cidermex ^{®b} (triamcinolone)	Locatop ^{®a} (désouide)	
	Cirkan ^{®b} (désouide)	Nasacort ^{®b} (triamcinolone)	
	Hexatrione ^{®b} (triamcinolone)	Nasalide ^{®b} (flunisolide)	
	Kenacort ^{®b} (triamcinolone)	Pevisone ^{®a} (triamcinolone)	
	Localone ^{®a} (triamcinolone)	Tridesonit ^{®a} (désouide)	
C1, non estérifiés	Bétaméthasone ^{®b,c} (bétaméthasone)	Percutalgine ^{®a,c} (dexaméthasone)	B
	Celestamine ^{®b,c} (bétaméthasone)	Polydexa ^{®b,c} (dexaméthasone)	
	Celestene ^{®b,c} (bétaméthasone)	Sterdex ^{®b,c} (dexaméthasone)	
	Maxidex ^{®b,c} (dexaméthasone)	Tobradex ^{®b,c} (dexaméthasone)	
	Maxidrol ^{®b,c} (dexaméthasone)	Ultraproct pom ^{®a,c} (fluocortolone)	
	Ozurdex ^{®b,c} (dexaméthasone)	Ultraproct suppo ^{®b,c} (fluocortolone)	
C2, estérifiés	Alkocortenbioform ^{®a,c} (fluméthasone pivalate)	Dexsol ^{®b,c} (dexaméthasone sodium phosphate)	Pas de réactions croisées avec les autres groupes
	Alkosalen ^{®a,c} (fluméthasone pivalate)	Diprostene ^{®b,c} (bétaméthasone sodium phosphate)	
	Alkotar ^{®a,c} (fluméthasone pivalate)	Frakidex ^{®b,c} (dexaméthasone sodium phosphate)	
	Auricularum ^{®b,c} (dexaméthasone sodium phosphate)	Framyxone ^{®b,c} (dexaméthasone sodium phosphate)	
	Betnesol ^{®b,c} (bétaméthasone sodium phosphate)	Mepacyl ^{®b,c} (dexaméthasone acétate)	

Tableau 2 (Suite)		
Groupe	Spécialités disponibles en France (DCI)	Réactions croisées
D	Chibro-Cadron ^{®b,c} (dexaméthasone sodium phosphate)	Neodex ^{®b,c} (dexaméthasone acétate)
	Dectancy ^{®b,c} (dexaméthasone acétate)	Nerisalic ^{®a,c} (diflu cortolone valérate)
	Dexafree ^{®b,c} (dexaméthasone sodium phosphate)	Nerisone ^{®a,c} (diflu cortolone valérate)
	Dexagran ^{®b,c} (dexaméthasone sodium phosphate)	
	Asmabec ^{®b} (béclométhasone dipropionate)	Diprolene ^{®a} (béclométhasone dipropionate)
	Beclorhino ^{®b} (béclométhasone dipropionate)	Diprosalic ^{®a} (béclométhasone dipropionate)
	Beclojet ^{®b} (béclométhasone dipropionate)	Diprosone ^{®a} (béclométhasone dipropionate)
	Béclométhasone ^{®b} (béclométhasone dipropionate)	Diprostene ^{®b} (béclométhasone dipropionate)
	Beclospin ^{®b} (béclométhasone dipropionate)	Ecobec ^{®b} (béclométhasone dipropionate)
	Beclospray ^{®b} (béclométhasone dipropionate)	Flixonase ^{®b} (fluticasone propionate)
	Beconase ^{®b} (béclométhasone dipropionate)	Flixotide (diskus) ^{®b} (fluticasone propionate)
	Becotide ^{®b} (béclométhasone dipropionate)	Flixovate ^{®a} (fluticasone propionate)
	Bemedrex ^{®b} (béclométhasone dipropionate)	Humex ^{®b} (béclométhasone dipropionate)
	Betesil ^{®a} (béclométhasone 17-valérate)	Innovair ^{®b} (béclométhasone dipropionate)
	Betneval ^{®a} (béclométhasone 17-valérate)	Miflasone ^{®b} (béclométhasone dipropionate)
	Buccobet ^{®b} (béclométhasone 17-valérate)	Nasonex ^{®b} (mométhasone furoate)
	Celestoderm relais ^{®a} (béclométhasone 17-valérate)	Qvar autohaler ^{®b} (béclométhasone dipropionate)
	Clarelux ^{®a} (clobétasol propionate)	Qvarspray ^{®b} (béclométhasone dipropionate)
	Clobex ^{®a} (clobétasol propionate)	Rhinomaxil ^{®b} (béclométhasone dipropionate)
	Daivobet ^{®a} (béclométhasone dipropionate)	Seretide (diskus) ^{®b} (fluticasone propionate)
	Dermoval ^{®a} (clobétasol propionate)	Xamiol ^{®a} (béclométhasone dipropionate)
^a Forme topique. ^b Autre forme. ^c Éléments modifiés de la classification de Matura et Goossens [11].		

Concernant le groupe D, les différences sont plus frappantes. Le groupe D1, mené par le dipropionate de bétaméthasone, correspond aux dermocorticoïdes fluorés (donc à structure moléculaire complexe rendant leur biotransformation cutanée difficile) et n'est qu'exceptionnellement impliqué dans des réactions allergiques de contact. Il constitue donc la plus sûre alternative en cas d'allergie aux dermocorticoïdes.

En revanche, le groupe D2, dont le chef de file est l'acéponate de méthylprednisolone, croise avec le

budésotide (groupe B), donc éventuellement avec le groupe A ; il est donc plus fréquemment impliqué dans les réactions allergiques aux dermocorticoïdes (Fig. 6).

Séméiologie de l'allergie aux dermocorticoïdes

Le tableau clinique est peu spécifique et souvent peu spectaculaire [2], avec des signes cliniques souvent

Tableau 3 Classification des corticostéroïdes selon Baeck et al. [13], restreinte aux molécules disponibles en France avec nom de la spécialité.

Groupe	Spécialités disponibles en France (DCI)	
1	Adixone ^{®b} (fludrocortisone acétate) Aphilan ^{®a} (hydrocortisone) Bacicoline ^{®b} (hydrocortisone) Budésonide ^{®b} (budésonide)	Hydrocortisone ^{®a} (hydrocortisone) Locoid ^{®a} (hydrocortisone 17-butyrate) Medrol ^{®b} (méthylprednisolone acétate) Méthylprednisolone ^{®b} (méthylprednisolone acétate)
A + D2 + budésonide	Calmicort ^{®a} (hydrocortisone) Colofoam ^{®a} (hydrocortisone) Cortancyl ^{®b} (prednisone) Cortapaisyl ^{®a} (hydrocortisone) Cortisal ^{®a} (prednisolone) Cortisedermil ^{®a} (hydrocortisone) Deliproct ^{®a} (prednisolone) Depomedrol ^{®b} (méthylprednisolone acétate) Derinox ^{®b} (prednisolone) Dermofenac ^{®a} (hydrocortisone) Deturgylone ^{®b} (prednisolone) Efficort ^{®a} (hydrocortisone acéponate) Entocort ^{®b} (budésonide) Epitopic ^{®a} (difluprednate) Flucon ^{®b} (fluorométholone) Fludrocortisone AP-HP ^{®b} (fludrocortisone acétate) Hydrocortancyl ^{®b} (prednisolone)	Miflonil ^{®b} (budésonide) Novoplumon ^{®b} (budésonide) Onctose hydrocortisone ^{®a} (hydrocortisone) Panotile ^{®b} (fludrocortisone acétate) Pivalone ^{®b} (tixocortol pivalate) Predforte ^{®b} (prednisolone) Prednisolone ^{®b} (prednisolone) Prednisone ^{®b} (prednisone) Pulmicort ^{®b} (budésonide) Rafton ^{®b} (budésonide) Rhinocort ^{®b} (budésonide) Septomixine pate dentaire ^{®b} (hydrocortisone) Solumedrol ^{®b} (méthylprednisolone acétate) Solupred ^{®b} (prednisolone) Symbicort ^{®b} (budésonide) Thiovalone ^{®b} (tixocortol pivalate)
2	Antibio Synalar ^{®b} (fluocinolone acétonide) Cidermex ^{®b} (triamcinolone) Cirkan ^{®b} (désoside) Hexatrione ^{®b} (triamcinolone) Kenacort ^{®b} (triamcinolone) Localone ^{®a} (triamcinolone)	Locapred ^{®a} (désoside) Locatop ^{®a} (désoside) Nasacort ^{®b} (triamcinolone) Nasalide ^{®b} (flunisolide) Pevisione ^{®a} (triamcinolone) Tridesonit ^{®a} (désoside)
3 C + D1	Alkocortenbioform ^{®a} (fluméthasone pivalate) Alkosalen ^{®a} (fluméthasone pivalate) Alkotar ^{®a} (fluméthasone pivalate) Asmabec ^{®b} (béclométasone dipropionate) Auricularum ^{®b} (dexaméthasone sodium phosphate) Beclorhino ^{®b} (béclométasone dipropionate) Beclojet ^{®b} (béclométasone dipropionate) Béclométasone ^{®b} (béclométasone dipropionate) Beclospin ^{®b} (béclométasone dipropionate) Beclospray ^{®b} (béclométasone dipropionate) Beconase ^{®b} (béclométasone dipropionate) Becotide ^{®b} (béclométasone dipropionate) Bemedrex ^{®b} (béclométasone dipropionate) Bétaméthasone ^{®b} (bétaméthasone) Betesil ^{®a} (bétaméthasone 17-valérate) Betneval ^{®a} (bétaméthasone 17-valérate) Betnesol ^{®b} (bétaméthasone sodium phosphate) Buccobet ^{®b} (bétaméthasone 17-valérate) Celestamine ^{®b} (bétaméthasone) Celestene ^{®b} (bétaméthasone)	Diprosone ^{®a} (bétaméthasone dipropionate) Diprostene ^{®b} (bétaméthasone dipropionate + sodium phosphate) Ecobec ^{®b} (béclométasone dipropionate) Flixonase ^{®b} (fluticasone propionate) Flixotide (diskus) ^{®b} (fluticasone propionate) Flixovate ^{®a} (fluticasone propionate) Frakidex ^{®b} (dexaméthasone sodium phosphate) Framyxone ^{®b} (dexaméthasone sodium phosphate) Humex ^{®b} (béclométasone dipropionate) Innovair ^{®b} (béclométasone dipropionate) Maxidex ^{®b} (dexaméthasone) Maxidrol ^{®b} (dexaméthasone) Mepacyl ^{®b} (dexaméthasone acétate) Miflasone ^{®b} (béclométasone dipropionate) Nasonex ^{®b} (mométhasone furoate) Neodex ^{®b} (dexaméthasone acétate) Nerisalic ^{®a} (diflucortolone valérate) Nerisone ^{®a} (diflucortolone valérate) Ozurdex ^{®b} (dexaméthasone) Percutalgine ^{®a} (dexaméthasone)

Tableau 3 (Suite)		
Groupe	Spécialités disponibles en France (DCI)	
	Celestoderm relais ^a (bétaméthasone 17-valérate)	Polydexa ^b (dexaméthasone)
	Chibro-Cadron ^b (dexaméthasone sodium phosphate)	Qvar autohaler ^b (béclométasone dipropionate)
	Clarelux ^a (clobétasol propionate)	Qvarspray ^b (béclométasone dipropionate)
	Clobex ^a (clobétasol propionate)	Rhinomaxil ^b (béclométasone dipropionate)
	Daivobet ^a (bétaméthasone dipropionate)	Seretide (diskus) ^b (fluticasone propionate)
	Dectancy ^b (dexaméthasone acétate)	Sterdex ^b (dexaméthasone)
	Dermoval ^a (clobétasol propionate)	Tobradex ^b (dexaméthasone)
	Dexafree ^b (dexaméthasone sodium phosphate)	Ultraproct pom ^a (fluocortolone)
	Dexagrane ^b (dexaméthasone sodium phosphate)	Ultraproct suppo ^b (fluocortolone)
	Dexsol ^b (dexaméthasone sodium phosphate)	Xamiol ^a (bétaméthasone dipropionate)
	Diprolene ^a (bétaméthasone dipropionate)	
	Diprosalic ^a (bétaméthasone dipropionate)	

^a Forme topique.

^b Autre forme.



Figure 4. Test positif au pivalate de tixocortol.



Figure 5. Test positif au budésônide.

discrets, à chronologie atypique, parfois à distance de la zone d'application. Il faut savoir l'évoquer devant une absence d'amélioration d'un eczéma ou autre dermatose habituellement corticosensible, malgré l'application de dermocorticoïdes. Ce diagnostic est donc souvent tardif, évoqué au stade d'eczéma chronique ou lors de tests cutanés.

Il existe néanmoins une particularité sémiologique des patch-tests aux dermocorticoïdes qui est « l'effet bord » : compte tenu de l'action anti-inflammatoire du dermocorticoïde, maximale au centre de la zone où il est appliqué,

l'éruption eczématiforme n'aura tendance à apparaître qu'en périphérie de la zone testée (Fig. 7).

Le terrain peut être évocateur : contexte d'application itérative de dermocorticoïdes (dermite de stase, eczéma...), polysensibilisation aux médicaments topiques (cas de 80 % des patients) [14], sensibilisation déjà connue à un autre corticostéroïde, topique ou systémique.

Exploration des eczémas de contact aux dermocorticoïdes

Elle repose sur un interrogatoire rigoureux, en reprenant l'historique de tous les dermocorticoïdes et autres topiques



Figure 6. Test positif au 17-butyrate d'hydrocortisone (groupe D2) et au désoside (groupe B).



Figure 7. « Effet bord » lors d'un patch-test positif avec un dermocorticoïde.

appliqués et les antécédents d'utilisation de corticostéroïdes, quelle que soit la voie d'administration.

Dans un premier temps sont réalisés des tests épicutanés (patch-tests) avec les préparations commerciales suspectées et des batteries de corticostéroïdes commercialisées qui permettent d'optimiser les résultats.

Les marqueurs classiques de l'allergie aux dermocorticoïdes sont le pivalate de tixocortol pour le groupe A, le budésonide pour le groupe B et les dérivés du groupe D2, tous deux inclus dans la batterie standard européenne depuis 2000 [15], et l'hydrocortisone 17-butyrate pour le groupe D2. À eux trois, ces marqueurs permettent de détecter la majorité des patients allergiques aux dermocorticoïdes. Un « corticostéroïde mix » associant ces trois constituants a été proposé, mais aurait tendance à majorer les faux négatifs par l'effet anti-inflammatoire des autres constituants.

Le véhicule de choix pour réaliser ces tests est l'éthanol, bien que le corticostéroïde soit généralement une molécule instable, dans la mesure où la particule allergénique est souvent issue du produit de sa dégradation. Néanmoins, pour le pivalate de tixocortol et le budésonide, la vaseline est privilégiée [15]. Pour l'hydrocortisone, compte tenu de sa faible pénétration trans-épidermique, il est conseillé de la diluer dans un mélange égal de diméthyle sulfoxyde et d'éthanol.

Compte tenu de l'activité anti-inflammatoire du corticostéroïde, la lecture de ces tests allergologiques est complexe et a soulevé différentes problématiques :

- problème de la concentration du corticostéroïde dans son véhicule, susceptible de négativer le test. Il a été prouvé qu'il existait une relation inversement proportionnelle entre la concentration du corticostéroïde dans le test et le taux de réponses positives. Cependant, une concentration trop faible peut aussi être à l'origine de faux négatifs, d'où l'utilité possible d'appliquer le test en peau lésée. Il faut néanmoins garder aussi en mémoire le risque de sensibilisation au corticostéroïde par le biais d'un test à concentration trop élevée [16]. Les recommandations actuelles préconisent donc pour le budésonide une concentration de 0,01 % ou moins [17], pour le pivalate de tixocortol, une concentration de 0,1 %, et pour les autres corticostéroïdes, une concentration à 1 % [16] ;
- problème du moment de lecture du test : elle doit plutôt être tardive, à j6, voire plus tard, en sachant que l'effet « bord », survenant précocement, tend alors à disparaître. Mais, il existe aussi des troubles vasomoteurs initiaux induits par le corticostéroïde, à l'origine d'abord d'une vasoconstriction donc d'un blanchiment de la zone testée avec un risque de faux négatif, puis une vasodilatation massive conduisant à un érythème avec un risque de faux positif [2].

Afin d'optimiser l'interprétation de ces tests, on peut avoir recours aux Repeated Open Application Test (ROAT), aux IDR à lecture tardive, sans oublier d'y intégrer le test des principes actifs contenus dans les préparations commerciales contenant le dermocorticoïde (véhicule, conservateurs, excipients) comme la néomycine, le propylène glycol, la lanoline, l'alcool benzylique, l'acide sorbique.

Conclusion

L'hypersensibilité aux corticostéroïdes n'est pas exceptionnelle, la peau étant la principale voie de sensibilisation par mécanisme d'hypersensibilité retardée. En modifiant la structure chimique des glucocorticoïdes, l'industrie pharmaceutique les a certes rendus plus puissants, mais aussi plus allergisants. La séméiologie clinique peu spécifique en dehors de l'effet « bord » et l'interprétation particulière des tests allergologiques conduisent souvent à une méconnaissance des allergies aux dermocorticoïdes. Les réactions croisées entre corticostéroïdes concernent surtout les groupes A, B et D2 dits à « esters labiles ». Leur connaissance permet d'orienter le clinicien vers le type de corticostéroïde qu'il peut ou non utiliser pour son patient sensibilisé.

Déclaration d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

Références

- [1] Reynolds J. The extra Pharmacopeia, 29th ed. In: Martindale. Corticosteroids. London: The pharmaceutical Press; 1989, 872–902.
- [2] Baeck M, Marot L, Nicolas JF, Pilette C, Tennstedt D, Goossens A. Allergic hypersensitivity to topical and systemic corticosteroids: a review. *Allergy* 2009;64:978–94.
- [3] Hench PS, Kendall EC, Slocumb CH, Polley HF. The effect of a hormone of the adrenal cortex (17-hydroxy-11-dehydrocorticosterone: compound E) and of pituitary adrenocorticotrophic hormone on rheumatic arthritis. *Proc Staff Meet Mayo Clin* 1949;24:181.
- [4] Sulzberger MB, Witten VH. Preliminary and short reports. The effect of topically applied compound F in selected dermatoses. *J Invest Dermatol* 1952;19:101–2.
- [5] Milpied-Homs B, Goossens A. Allergie aux dermocorticoïdes. *Ann Dermatol Vénereol* 2001;128:935–7.
- [6] Baeck M, Chemelle JA, Terreux R, Drieghe J, Goossens A. Delayed hypersensitivity to corticosteroids in a series of 315 patients: clinical data and patch test results. *Contact Dermatitis* 2009;61:163–75.
- [7] Wilkinson SM. Corticosteroid cross-reactions: an alternative view. *Contact Dermatitis* 2000;42: 59–63.
- [8] Wilkinson SM, Beck MH. The significance of positive patch tests to 17-hydroxyprogesterone. *Contact Dermatitis* 1994;30:302–3.
- [9] Coopman S, Degreef H, Doms-Goossens A. Identification of cross-reaction patterns in allergic contact dermatitis from topical corticosteroids. *Br J Dermatol* 1989;121:27–34.
- [10] Lepoittevin JP, Drieghe J, Doms-Goossens A. Studies in patients with corticosteroid contact allergy: understanding cross-reactivity among different steroids. *Arch Dermatol* 1995;131:31–7.
- [11] Matura M, Goossens A. Contact allergy to corticosteroids. *Allergy* 2000;55:698–704.
- [12] Le Coz CJ. Hypersensibilité aux corticoïdes. *Ann Dermatol Vénereol* 2002;129:346–7.
- [13] Baeck M, Chemelle JA, Goossens A, Nicolas JF, Terreux R. Corticosteroid cross-reactivity: clinical and molecular modeling tools. *Allergy* 2011;66:1367–74.
- [14] Doms-Goossens A, Andersen KE, Brandão FM, Bruynzeel D, Burrows D, Camarasa J, et al. Corticosteroid contact allergy: an EECDRG multicentre study. *Contact Dermatitis* 1996;35: 40–4.
- [15] Isaksson M, Brandão FM, Bruze M, Goossens A. Recommendation to include budesonide and tixocortol pivalate in the European standard series. ESCD and EECDRG. *Contact Dermatitis* 2000;43:41–2.
- [16] Isaksson M, Bruze M, Björkner B, Hindsén M, Svensson L. The benefit of patch testing with a corticosteroid at a low concentration. *Am J Contact Dermatitis* 1999;10:31–3.
- [17] Isaksson M, Bruze M, Goossens A, Lepoittevin JP. Patch testing with budesonide in serial dilutions: the significance of dose, occlusion time and reading time. *Contact Dermatitis* 1999;40:24–31.

The Topical Corticosteroid Classification Called Into

Question:Towards a New Approach

Philippe HUMBERT¹, MD, PhD

Alexandre GUICHARD¹, PharmD

Co-authors

1 Research and Studies Center on the Integument (CERT), Department of Dermatology, Clinical Investigation Center (CIC INSERM 1431), Besançon University Hospital ; INSERM UMR1098, FED4234 IBCT, University of Franche-Comté, Besançon, France

Corresponding author:

guichard.alexandre@gmail.com,

Service de Dermatologie, CHU Jean MINJOZ, 3 Boulevard Alexandre Fleming, 25030 BESANÇON Cedex,

Phone : +33 3 81 21 83 01

Fax : +33 3 81 21 82 79

In 1952, Sulzberger *et al.* achieved a breakthrough in the field of dermatology by reporting for the first time the efficacy of topical corticosteroids (TCS) on eczematous dermatitis. Nowadays, TCS are widely used, at any age, to treat a wide variety of common dermatologic disorders i.e. contact dermatitis, psoriasis, atopic dermatitis, or to treat skin manifestations of auto-immune diseases. TCS represent the most frequently prescribed dermatological drugs, as an example 444 tubes of TCS are sold each second in India (1). These topical formulations have several effects such as anti-inflammatory and immunomodulator, antiproliferative, anti-pruritus and vasoconstrictor properties. Despite proven safety and tolerability, TCS may induce local and systemic side effects such as cutaneous atrophy, hypothalamic–pituitary–adrenal (HPA) axis suppression, iatrogenic Cushing's, steroid rosacea, allergy, and growth restriction in pregnancy.

Contrary to other therapeutic class such as antifungal, TCS have been ranked depending on their potencies suggesting using, for chronic diseases the less potent or in the other hand the more potent for rapid effects. It has been also recommended to mainly use low- or moderate-potency TCS on particular skin areas, such as face, or depending on the age i.e. on children. Concerning the potency of TCS, we are allowed to ask the question: which potency do we speak on?

Indeed, TCS potencies are curiously based on the vasoconstrictor assay (VCA), described by McKenzie and Stoughton in 1962, which consists to evaluate blanching of the skin after topical application on healthy patient. The assessment of skin blanching is performed by investigator using a visual scale divided in four points from no to strong vasoconstriction (2). Until now, many papers have been published describing the comparative blanching ability of TCS. The results of these studies have led to the establishment of the now common potency classification for TCS (3). Whereas McKenzie and Stoughton have described for the first time the TCS penetration and their blanching effect, the first classification of the TCS is anonymous (4).

Later, the subjectivity and the lack of reproducibility of this visual assessment have led to use objective device such as chromameter to measure the exact skin color. The Food and Drug

Administration even adopted this method as a means of assessing bioavailability and bioequivalence of different TCS and until now, VCA has been proposed to have good correlation with clinical outcome, particularly with the anti-inflammatory effect (5). Nevertheless, clinicians should be cautioned that the correlation of the VCA with clinical outcome is, at best, an approximation. Indeed, Haigh *et al.* have observed that some patients do not show any blanching even on application of large amounts of potent TCS (3). In 2006, the European Medicines Agency stipulated that the VCA is only sufficient if the generic medicinal product possesses the same or similar qualitative and quantitative composition to that of the reference product (6). It is evident that the vasoconstriction rankings predict percutaneous absorption, but do not predict clinical outcome and clinical efficacy with reliability. Thus, Hepburn *et al.* in a review on the efficacy of 17 TCS, found a discrepancy between the clinical outcome and the results of VCA for six TCS (35%) (7). The heterogeneity in clinical response may be explained because the current ranking is still not standardized and no strict guidelines for pharmaceutical companies have been yet published. For example while the USA use a seven classes classification, UK or France use four classes, making comparison impossible. On the other hand, who can assume that the vasoconstriction on healthy skin is correlated with the anti-inflammatory effect on skin disease?

Moreover, in the age of new reliable and innovative technologies, visual assessment of VCA seems obsolete and dangerous. Indeed, although severe side effects are rare under normal conditions of use, skin inflammation and impairment, thin skin in infant or elderly, large treated area, and long duration treatment may increase skin penetration and thereby systemic or local side effects. Therefore, many teams tried to improve VCA by exploring new methods to assess objectively the blanching effect of TCS such as laser doppler velocimetry, capillaroscopy, or transepidermal water loss. Although bioengineering tools provided objective complementary information about TCS efficacy on vasoconstriction, VCA or blanching effect are too restrictive to conclude to an anti-inflammatory effect. Indeed, VCA represents the efficacy of TCS on vascular tone not exactly on the global skin inflammation. Inflammatory reactions result in redness, edema, eczema, pruritus and

involve cytokines release, and immune cells infiltration, not only dilated vessels (Table 1). To conclude and rank TCS on the real anti-inflammatory effect, main of these features should be assessed objectively in standardized clinical trials or with *in vitro* or *ex vivo* models.

Moreover a question still remains: why do we limit the pharmacological and large effects of TCS to vasoconstriction in a power scale, whereas the vasoconstriction effect of TCS is probably the less expected effect of these products? Indeed, VCA may not inform on the other important properties of TCS such as immunomodulation, antiproliferative, anti-pruritus which are not strictly dependent from the vessel motility or vessel network. A new classification for potency of TCS should take into account all the main properties of TCS, therefore the current classification based on the VCA need to be reappraised. Different interesting classifications of TCS have been proposed based on the therapeutic index (number of patients with 75-100% improvement by day 21 divided by the number with HPA axis suppression) (7,8), or based on the ratio cost/efficacy (7,8), on the properties to induce hypersensitivity (8,9), or even on the dosage form. However, those classifications were still not adapted to skin diseases.

A new approach for the classification of the potency of TCS would consist in ranking them depending on the indication which they are prescribed to. Thus, we can imagine a TCS with four or five different ranks depending on the therapeutic targets (Table 1): anti-inflammatory effect, immunosuppressive effect, anti-proliferative effect, anti-histamine releasing effect, vessel dilatation...Thus the choice of an anti-psoriatic TCS could be $A^3B^2C^3D^1E^1$ (Table 2). This new thinking involves comparisons of TCS efficacies, particularly on diseases they are supposed to treat, with objective and reliable methods. A high potent TCS determined by VCA may be a low potent TCS in the context of immunomodulation, pruritus, or reduction of the keratinocytes or fibroblasts proliferation. This hypothesis has been recently confirmed in an *ex vivo* study which shown that the degree of capacity to inhibit histamine release by TCS is absolutely not correlated with the VCA (10). Indeed, the authors demonstrated that micronized betamethasone dipropionate, a high potent TCS according to VCA classification, became

a low potent TCS for the inhibition of histamine release compared to others TCS. The *ex vivo* model of histamine-induced release by anti-IgE injection, is probably the more reliable and more specific to assess the antipruritus and anti-inflammatory effects of TCS than the VCA (10). Similarly, we could assess that the comparison of TCS may be based on antiproliferative effect assessed by Annexin-V/propidium iodide or BrdU staining followed by flow cytometry; on inflammatory cells infiltration or spongiosis visualized with confocal microscopy; on inflammatory mediators released such as IL-6, adenosine or prostaglandins quantified by microdialysis; or even on cutaneous temperature assessed by thermography.

VCA described in 1962 was an interesting assessment of potency of TCS at the beginning of these new therapies, however knowledge and technology have evolved and the classification should follow. A TCS with a strong vasoconstrictor effect, as determined by VCA, has not necessary a strong anti-inflammatory effect. Therefore a specific classification adapted to the therapeutic target is needed to be more efficient and thus reduce side effects and corticophobia.

References:

1. Verma SB. Sales, status, prescriptions and regulatory problems with topical steroids in India. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2014; **80**: 201–203.
2. Görne RC, Greif C, Metzner U et al. Assessment of topical corticosteroid activity using the vasoconstriction assay in healthy volunteers. *Skin Pharmacol Physiol* 2007; **20**: 133–140.
3. Haigh JM, Kanfer I. Assessment of topical corticosteroid preparations: the human skin blanching assay. *Int J Pharm*. 1984; **19**: 245–262.
4. Anonymous. Corticosteroids for the skin. *Drug Ther Bull*. 1977; **15**: 5–8.
5. Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Topical dermatologic corticosteroids - in vivo bioequivalence. 1995.
<http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm070234.pdf> (accessed August 10, 2014).
6. European Medicines Agency. Questions and answer on guideline title : Clinical investigation of corticosteroids intended for use on the skin. 2006.
http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC50003330.pdf (accessed August 10, 2014).
7. Hepburn DJ, Aeling JL, Weston WL. A reappraisal of topical steroid potency. *Pediatr Dermatol* 1996; **13**: 239–245.
8. Luger TA. Balancing efficacy and safety in the management of atopic dermatitis: the role of methylprednisolone aceponate. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV*. 2011; **25**: 251–258
9. Baeck M, Goossens A. Immediate and delayed allergic hypersensitivity to corticosteroids: practical guidelines. *Contact Derm* 2012; **66**: 38–45.
10. Courderot-Masuyer C, Robin S, Tauzin H et al. Evaluation of the Effects of Corticosteroids on Histamine Release by ex vivo Cutaneous Microdialysis. *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications* 2013; **03**: 228–233.

Table 1: Main biological effects of corticosteroids and clinical targets of topical corticosteroids (TCS)

Biological effects of corticosteroids	Clinical targets of TCS
↓Immunoglobulin and protein synthesis in lymphatic tissues (IgE, IgG, complement)	• erythema
↓Cytokines synthesis (IL1,2,3,4,5,6,8,11,12,15,16, TNF α , IFN γ , colony stimulating factors)	• pruritus
↑TGF β synthesis	• vessel dilatation
↓inflammation mediators (prostaglandins, cyclooxygenase, leukotrienes, phospholipase)	• inflammation and auto-immunity (bullous diseases, scarring alopecia, alopecia areata, lichen planus, scleroderma, psoriasis...)
↑lipocortine-1 production	• allergy (eczema, atopic dermatitis...)
↓cells proliferation (keratinocyte, fibroblast, monocyte, lymphocyte, eosinophil...)	• skin hypertrophy (keloids scars, psoriasis)
↓neutrophils adhesion	
↓HLA expression	
↓chemotaxis	
↓phagocytosis	
↓collagen synthesis	
↓capillary permeability and dilatation	
↑blood sugar levels	
↑sodium retention	
↑lipid mobilization	
↑protein catabolism	
↑osteoclast activity	
↓growth hormone synthesis chronically	

Table 2: Proposal of a new classification for the potency ranking of TCS depending on the therapeutic targets more accurate than the VCA. A fictitious example of a TCS prescribed for the treatment of a non erythematous psoriatic lesion which would be ranked : $A^3B^2C^3D^1E^1$

	0 <i>(no effect)</i>	1 <i>(weak effect)</i>	2 <i>(moderate effect)</i>	3 <i>(strong effect)</i>
A: Anti-inflammatory				X
B: Immunosuppressive			X	
C: Anti-proliferative				X
D: Histamine release inhibition		X		
E: Vessel dilatation		X		

LA PUISSANCE DES DERMOCORTICOÏDES : VERS UNE NOUVELLE APPROCHE DE LA CLASSIFICATION

Les dermocorticoïdes (DC) sont des anti-inflammatoires topiques largement prescrits pour traiter de nombreuses dermatoses. Actuellement, leur puissance, classée en quatre groupes, est déterminée par leur effet vasoconstricteur basé sur un test empirique obsolète, subjectif et réducteur vis-à-vis des nombreux autres effets des DC. L'objectif de ce travail était de comparer de manière spécifique la puissance des DC dans trois de leurs indications principales et de la confronter à la classification actuelle:

- Anti-inflammatoire. Une étude clinique randomisée contrôlée en double aveugle a été réalisée sur 21 patients allergiques au nickel traités par quatre DC. Les différents paramètres de l'inflammation ont été mesurés objectivement par des outils de biométrie. La hiérarchisation de la puissance des DC variait en fonction du temps et des paramètres de l'inflammation étudiés. Sur ce modèle, la classification peut être simplifiée en trois groupes.
- Antiprolifératif. L'efficacité de six DC sur la prolifération, le cycle cellulaire et l'apoptose de kératinocytes hyperproliférant en culture a été comparée. La classification de la puissance antiproliférative divergeait de la classification actuelle.
- Antiprurigineux à médiation histaminique. L'effet anti-histaminolibérateur de huit DC a été comparé sur des explants de peau à l'aide d'un dosage par microdialyse sous-cutanée. La classification de la puissance anti-histaminolibératrice divergeait de la classification actuelle.

Nous avons démontré que la classification actuelle des DC n'est pas exactement corrélée à leur effet anti-inflammatoire dans l'allergie de contact, à leur effet antiprolifératif ainsi qu'à leur effet sur la libération d'histamine. Notre nouvelle approche est de parler des puissances DC au pluriel et non d'une classification unique. Une classification multimodale adaptée à la situation clinique permettrait une prescription plus efficiente et limiterait les échecs et effets indésirables.

Mots clefs : Dermocorticoïdes. Classification. Anti-inflammatoire. Allergie de contact. Antiprolifératif. Kératinocytes. Anti-histaminolibérateur. Microscopie confocale *in vivo*. Biométrie cutanée.

THE TOPICAL CORTICOSTEROIDS POTENCY: TOWARDS A NEW APPROACH OF THE CLASSIFICATION

Topical corticosteroids (TCS) are topical anti-inflammatory widely prescribed to treat many skin diseases. Currently, their potency, ranged into four groups, is determined by their vasoconstrictor effect based on an empirical, outdated, subjective and too restrictive test. The aim of this work was to compare specifically the potency of TCS in three situations and to compare it to the current classification:

- Anti-inflammatory. A randomized controlled double-blind clinical study was performed on 21 nickel-sensitive patients treated by four TCS. Different inflammation parameters were objectively assessed with bioengineering tools. The ranking of TCS potency varied according to time and parameters of the inflammation studied. According to this model, the classification may be simplified into three groups.
- Antiproliferative. The efficacy of six TCS on immortal keratinocytes proliferation, cell cycle and apoptosis was compared. The classification of the antiproliferative potency differed from the current classification.
- Antipruritic histamine-mediated. The histamine-release inhibition of eight TCS was compared on skin explants by a subcutaneous microdialysis dosage. The classification of the histamine-release inhibition potency differed from the current classification.

We have demonstrated that the current classification of TCS potency is not strictly correlated to their anti-inflammatory effect in the context of allergic contact dermatitis, to their antiproliferative effect and to their histamine-release inhibitor effect. Our new approach is to talk about TCS potencies in the plural. A specific classification adapted to the therapeutic target is needed to be more efficient and reduce side effects.

Keywords: Topical corticosteroid. Classification. Anti-inflammatory. Allergic contact dermatitis. Antiproliferative. Keratinocytes. Histamine-release inhibition. *In vivo* confocal microscopy. Cutaneous bioengineering.