



HAL
open science

Identification de biomarqueurs sériques dans le vitiligo

Muriel Richard

► **To cite this version:**

Muriel Richard. Identification de biomarqueurs sériques dans le vitiligo. Médecine humaine et pathologie. 2018. dumas-02089994

HAL Id: dumas-02089994

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02089994>

Submitted on 4 Apr 2019

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.



Identification de biomarqueurs sériques dans le vitiligo

Muriel Richard

► **To cite this version:**

Muriel Richard. Identification de biomarqueurs sériques dans le vitiligo. Médecine humaine et pathologie. 2018. dumas-02089994

HAL Id: dumas-02089994

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02089994>

Submitted on 4 Apr 2019

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.

Université de Bordeaux
U.F.R. DES SCIENCES MEDICALES

Année 2018

Thèse n° 3123

Thèse pour l'obtention du
DIPLOME d'ETAT de DOCTEUR EN MEDECINE
Discipline : Dermatologie et Vénérologie

Présentée et soutenue publiquement à Bordeaux

Le 16 octobre 2018

Par **Muriel RICHARD**

Née le 26 janvier 1990 à Rennes (35)

<p>IDENTIFICATION DE BIOMARQUEURS SERIQUES DANS LE VITILIGO</p>
--

Directeur de thèse :

Monsieur le Professeur Julien SENESCHAL

Rapporteur externe :

Madame le Professeur Delphine STAUMONT

Membres du jury :

Monsieur le Professeur Alain TAIEB	Président
Monsieur le Professeur Patrick BLANCO	Membre
Madame le Docteur Katia BONIFACE	Membre
Monsieur le Professeur Franck BORALEVI	Membre
Madame le Professeur Marie-Sylvie DOUTRE	Membre
Monsieur le Professeur Khaled EZZEDINE	Membre

REMERCIEMENTS

Au Président du jury

Monsieur le Professeur Alain Taieb

Professeur des Universités, Praticien Hospitalier,
Service de Dermatologie,
Hôpital Saint André, Bordeaux
INSERM U1035, Immuno-Dermatologie ATIP-AVENIR
Université de Bordeaux

Monsieur Taieb, je suis honorée que vous présidiez le jury de cette thèse. J'admire votre dévouement à la dermatologie, l'étendue de vos connaissances et votre investissement dans la recherche. J'ai beaucoup de chance d'avoir pu étudier dans votre prestigieux service.

Soyez assuré de ma reconnaissance et de mon profond respect.

A mon Directeur de thèse

Monsieur le Professeur Julien Seneschal

Professeur des Universités, Praticien Hospitalier,
Service de Dermatologie,
Hôpital Saint André, Bordeaux
INSERM U1035, Immuno-Dermatologie ATIP-AVENIR
Université de Bordeaux

Julien, ce fut un réel honneur de t'avoir comme directeur de thèse. Je te remercie de m'avoir fait confiance pour ce sujet et de m'avoir guidée tout au long de sa réalisation avec bienveillance. Le vitiligo est un sujet qui te passionne et dont j'ai découvert la complexité. Merci aussi pour ta disponibilité et ton enseignement durant ces années d'internat.

Trouve ici toute ma reconnaissance et ma sincère gratitude.

A mon Rapporteur de thèse

Madame le Professeur Delphine Staumont

Professeur des Universités, Praticien Hospitalier,
Service de Dermatologie,
Hôpital Huriez, Lille

Vous m'avez fait l'honneur d'être le rapporteur de ma thèse. Je vous suis profondément reconnaissante d'avoir consacré du temps à sa lecture et à l'élaboration de votre rapport. Soyez assurée de mon profond respect et de toute ma gratitude.

Aux membres du jury

Monsieur le Professeur Patrick Blanco

Professeur des Universités, Praticien Hospitalier,
Service d'Immunologie et Immunogénétique,
ImmunoConcEpT, CNRS UMR 5164,
Hôpital Pellegrin, Bordeaux

Vous me faites l'honneur de juger ce travail et d'y apporter votre vision d'immunologiste. Soyez assuré de ma sincère reconnaissance et de mon plus profond respect.

Madame le Docteur Katia Boniface

Maître de Conférences en Innovation Thérapeutique
INSERM U1035, Immuno-Dermatologie ATIP-AVENIR,
Université de Bordeaux

Katia, je suis très heureuse que tu fasses partie du jury de cette thèse. Merci pour ton implication, ta rigueur et ta disponibilité dans la relecture de ce travail ainsi que pour tes précieux conseils. C'est un honneur d'avoir pu bénéficier de ton expertise dans ce domaine où tu excelles. Je te souhaite tous mes vœux pour la suite de ta carrière.

Monsieur le Professeur Franck Boralevi

Professeur des Universités, Praticien Hospitalier,
Service de Dermatologie Pédiatrique,
Hôpital des Enfants, Bordeaux

Franck, merci d'avoir accepté de faire partie du jury de cette thèse. Vous m'avez fait découvrir et aimer la dermatologie pédiatrique. C'est un grand honneur que vous me faites d'intégrer prochainement votre équipe. Je tenais aussi à vous remercier profondément pour votre humanité. Veuillez recevoir ma plus sincère reconnaissance.

Aux membres du jury

Madame le Professeur Marie-Sylvie Doutre

Professeur des Universités, Praticien Hospitalier,
Service de Dermatologie,
Hôpital Saint André, Bordeaux

Madame Doutre, vous m'honorez en acceptant de juger ce travail de thèse. Vous m'avez appris l'observation et la rigueur dès mes premiers pas dans la dermatologie. J'admire l'étendue de vos connaissances, votre passion de la sémiologie, ainsi que votre douceur avec les patients. Veuillez croire en l'expression de ma plus haute considération.

Monsieur le Professeur Khaled Ezzedine

Professeur des Universités, Praticien Hospitalier,
Service de Dermatologie,
Hôpital Henri-Mondor, AP-HP, Créteil

Je vous remercie d'avoir accepté de faire partie du jury de cette thèse. Nous n'avons pas eu l'occasion de travailler ensemble lorsque vous étiez à Bordeaux, mais je connais votre grande implication pour le vitiligo. J'espère que ce travail vous satisfera. Veuillez croire en l'expression de ma profonde reconnaissance.

Sans oublier,

Madame le Professeur Marie Beylot-Barry

Madame Beylot-Barry, je tiens à vous exprimer mon admiration pour votre dévouement à la dermatologie, votre rigueur ainsi que votre dynamisme. Vous m'avez transmis un enseignement prestigieux pendant ces quatre années et je vous en remercie. Soyez assurée de ma plus haute considération.

Monsieur le Docteur Olivier Cogrel

Olivier, je t'admire pour tes grandes qualités de chirurgien. Merci pour ton enseignement et la démystification de la pathologie unguéale !

Monsieur le Professeur Pierre Couppe

Je tenais à vous remercier pour ce semestre passé dans votre service à Cayenne. Vous m'avez beaucoup appris et j'ai apprécié votre enseignement de la dermatologie tropicale, sujet dont vous m'avez transmis la passion.

Madame le Docteur Caroline Dutriaux

Caroline, j'admire ton approche et ta douceur avec tes patients d'onco-dermatologie. Merci pour ce semestre passé à tes côtés.

Monsieur le Docteur Thomas Jouary

Merci pour ce semestre à Pau, ton encadrement et tes conseils culturels pour découvrir cette très belle région.

Madame le Docteur Christine Léauté-Labrèze

Christine, vous êtes un modèle tant l'étendue de vos connaissances en dermatopédiatrie est grande. Etre chef de clinique à vos côtés sera pour moi un grand honneur.

Sans oublier,

Madame le Professeur Anne Pham-Ledard

Liên, merci pour ton encadrement et ta pédagogie. Tu as été un modèle de rigueur dès le premier semestre à Haut-Lévêque, et plus tard à la consultation.

Madame le Docteur Brigitte Milpied

Brigitte, merci pour tout ce que tu m'as appris durant cet internat et tes bons conseils. J'admire ton sens clinique ainsi que la richesse de ta collection de photos ! Travailler avec toi fut un réel plaisir.

Madame le Docteur Fanny Morice-Picard

Fanny, j'ai adoré ce semestre à tes cotés en dermatologie pédiatrique. Je t'admire pour tes qualités humaines et l'étendue de tes connaissances en génodermatoses qui restent pour moi encore bien mystérieuses...

Monsieur le Docteur Pascal Pillet

Merci pour votre accueil dans votre service de pédiatrie. Ces 6 mois d'internat ont été particulièrement riches d'apprentissages et de rencontres. Je suis très honorée de travailler prochainement en lien avec votre équipe.

Madame le Docteur Sorilla Prey

Sorilla, merci pour ton dynamisme et enseignement en onco-dermatologie, mais aussi pour tous tes bons conseils informatiques !

Madame le Professeur Béatrice Vergier

Merci Béatrice pour votre gentillesse et votre enseignement. Vous transmettez votre passion et ce fut un réel plaisir de travailler à vos côtés.

Un grand merci

À l'équipe du laboratoire d'immunologie Inserm,

Clément Jacquemin, Fabienne Lucchese, Christina Martins, Jérôme Rambert et Denis Thiolat, sans qui ce travail n'aurait pas été possible.

À toute l'équipe des dermatologues chirurgiens

Itzia, Jean-Michel, Vincent, Patrick, Jean-Charles, Nathalie

À l'équipe de rhumatologie- médecine interne du CH de Pau

Les Dr Laurence Lequen, Xavier Delbrel, Julien Desblache et Clémence Pichon
Merci pour votre enseignement de la rhumatologie ainsi que votre gentillesse.

À l'équipe de dermatologie du CH de Cayenne

Le Pr Pierre Couppie, les Dr Dominique Sainte-Marie, Julie Dufour, Jenna Graille, le cadre Mr Gaudinot, ainsi que l'ensemble de l'équipe para-médicale

Vous m'avez beaucoup appris pendant ce semestre aussi bien sur le plan tropical qu'humain. Cette expérience en terre guyanaise restera unique.

À l'équipe d'anatomopathologie de Haut-Lévêque

Béatrice, Marie-Laure, Annick, Mr Goussot

Merci pour ce semestre parmi vous et l'enseignement que vous m'avez apporté pendant ces 6 mois. J'admire votre profession !

À l'équipe de pédiatrie de l'hôpital des enfants

Merci au Dr Pascal Pillet, Olivier Richer, Etienne Goisque, Marie Lagarde, Marion Favier, Laura Jouhier, Adeline Ravalet et à toute l'équipe pour votre accueil chaleureux, votre bienveillance, disponibilité et votre enseignement durant ces six mois. J'ai beaucoup appris à vos côtés et je suis très honorée de travailler parmi vous ces 2 prochaines années.

À toute l'équipe des infirmier(e)s, aides-soignants(e)s, ASH et secrétaires d'hospitalisation, de consultation St André et de l'hôpital des enfants, A Mme Capella, Mme Carton et Mme Sibers ainsi qu'Agathe, notre psychologue

Vous formez une belle équipe dynamique et souriante. C'est un réel plaisir de travailler avec vous. Agathe, tu fais un travail remarquable.

Et enfin à toute l'équipe des attachés de recherche clinique

Christine, Gaëlle, Nicolas, Guillaume, Elie.

Vous avez été d'une aide précieuse pendant cet internat et je vous en remercie. J'admire votre agilité et rapidité à parcourir les couloirs de St André toujours dans la bonne humeur !

A mes co-internes et amis,

De Promo :

Anne, tu es une personne exceptionnelle et ta sensibilité est une force ! Je n'oublierai jamais les moments que nous avons partagés en Guyane. Je te souhaite plein de bonheur pour la suite à Périgueux.

Victoire, que de souvenirs de nos galères de débutantes ! Retrouver ta bonne humeur et le feuillet « Braun » en anapath fut un réel plaisir. Je te souhaite le meilleur pour ta carrière future.

Maiana, j'ai beaucoup apprécié travailler avec toi en onco-dermatologie pour tes qualités humaines. Merci pour tes conseils avisés qui m'ont aidé à arriver jusqu'ici. Je te souhaite plein de bonheur du côté de Bayonne !

Laure, nous n'avons jamais partagé de semestre ensemble, mais j'admire ton dynamisme et ton organisation ! Tu feras sans aucun doute une excellente CCA.

D'Inter-CHU Guyanais :

Romain, nous avons partagé un super semestre où efficacité était notre maître mot. Tes conseils avisés étaient et continuent d'être précieux.

Chloé, Anne-Laure, Charlotte, merci pour votre humour et tous les bons moments passés dans le service et en dehors !

De dermatopédiatrie :

Julie, efficace à toute épreuve. Merci pour tous les bons moments que nous avons passé ensemble, du café matinal aux soirées raclettes en passant par le Bobun dominical. L'arrivée d'Ulysse était très attendue et je vous souhaite tout le meilleur.

Célia, je suis admirative de ta passion de la pédiatrie. Ta spontanéité et ta douceur sont tes grandes qualités.

À tous mes supers co-internes d'anapath :

Aude, la rebelle, toujours en forme pour nous faire rire du matin au soir. L'adorable **Camille** qui volera bientôt de ses propres ailes. **Anaïs**, apportée par la cigogne, qu'il a fallu nourrir et surveiller pendant ces 6 mois. **Julie**, la cuisinière hors-pair. **Sophie**, très douce en toutes circonstances ! **Sarah**, notre maman à tous. Merci de m'avoir acceptée parmi vous et de m'avoir transmis une partie de vos savoirs scientifiques et culinaires dans la bonne humeur !

Aux fœtus de pédiatrie :

Marie-No, la plus « grave », qui sème la bonne humeur sur son passage ! **Virginie, Audrey, Camille, Mélanie, Maëlis et Adèle**, pour nos moments de rire dans nos journées parfois difficiles.

Aux vieux internes devenus chefs

Stéphanie, tu m'as accompagnée pour mes premiers pas, peu assurés, dans la dermatologie. Je t'admire pour ta patience, ta gentillesse et tes connaissances. Tu es remarquable et resteras un exemple pour moi.

Aurélia, j'ai adoré faire le stage d'onco-dermatologie avec toi. Ta discrétion est une force.

Antoine, Camille, Anne-So Dudu, Anne-So Dada, Emilie, Léa, Alexia, Anne-Laure, Marine chez les bisounours et Jenna en terre guyanaise : je vous remercie tout particulièrement pour votre compagnonnage et conseils avisés.

Nina, Léa, j'ai adoré partager le semestre de consultation avec vous. Vous m'avez beaucoup appris et j'ai pris de la graine de votre sérénité.

Vaianu, pour ta bonne humeur et générosité. J'ai beaucoup apprécié ces 2 semestres avec toi, d'abord chez les « grands », puis chez les « drôles »... J'espère que tu découvres de nouvelles expressions du côté basque.

Diane, ton sourire fut le premier à m'accueillir ici à Bordeaux avant même mon choix définitif. Tu distribues la bonne humeur sur ton passage, j'adore travailler avec toi et j'espère que cela va continuer.

Auréli, j'admire ton dynamisme et te remercie pour tous tes conseils ! Les périgourdins ont beaucoup de chance de t'avoir. Tu seras une maman formidable !

Anouck, merci pour tous ces moments où tu nous as fait rire, du premier semestre jusqu'à ton départ à Montpellier. C'est toujours un plaisir de te revoir.

Aux internes de dermato :

Adeline, Séverine, Héloïse, Alexandra et Marine. Vous formez une promo de choc ! J'ai beaucoup apprécié travailler avec vous.

Océane, Thibaut, Anne-Laure, merci pour votre bonne humeur ensoleillée.

Thomas, Carl, Paul, Dorine, Dige, pour avoir su brillamment animer les staffs du jeudi matin.

Sans oublier Marie, Ingrid, Camille, Aurore, Alizé, Oriane

Joëlle, nous avons travaillé 15 jours ensemble, mais j'aurais aimé plus... Merci pour ton aide en immunologie fondamentale !

À mes colocos Palois et Bordelais :

Claire-Mo et Simon pour ces 6 mois géniaux au pied de la montagne !

Margaux, tu es une super coloc, je te souhaite plein de bonheur avec Louis !

À mes colocos d'adoption :

Marie et Marc, merci de votre accueil inconditionnel à la « maison ». Marc, merci pour ton aide dans mes galères de débutante en statistiques.

Et à tous ceux que j'ai pu oublier...

A mes amis de longue date,

Ma Nunue, alias Bonifesse. Emmanuelle, tu es ma plus vieille amie ! Si tant de fois nos chemins se sont éloignés, le lien qui nous unit nous retrouve régulièrement. Avec ton mari Ismaël et votre fille Julia vous formez une famille en or.

Marianne, alias Botéfatal. Tu excelles la pédiatrie du côté de Brest où tu as construit avec ton mari une petite famille 100% bretonne. J'admire votre simplicité, votre humour et votre générosité. Tu as largement gagné le privilège de rester miss Bretagne pour plusieurs années encore.

À tous les amis pré-médecine : Anne-Claire, Frédo, Marine, Malo, Magalie, Tristan, Marina... Notre vie d'écolier, collégien, et lycéen n'est pas si loin finalement même si nous avons pris des trajectoires différentes.

À mes copains de galère du Solfège...

À toute la team du Rock de Fougères et Clémence, mon « danseur ».

À la patate team de l'externat : Ma petite Cat, Céline, Jiji, Simon, Pauline, Rémi... Malgré la distance qui nous sépare, nous avons gardé de bons souvenirs de ces années studieuses et de ce grand voyage asiatique.

Aux belles rencontres de ces dernières années,

Fanny et Quentin, vous découvrez la vie de sédentaire. Depuis notre rencontre au nouvel an guyanais, nous avons renouvelé les expériences culturelles, sportives ou culinaires. J'espère que nous continuerons nos sorties dans la bonne humeur pour encore de nombreuses années.

Marine et Guillaume, Julie et Nicolas, pour tous les bons moments passés et surtout ceux à venir !

Joan, Quentin, restés en Guyane exercer leur passion de kiné.

A mes proches,

À Corentin, Merci de me rendre si heureuse depuis bientôt trois ans. Merci pour ton soutien infaillible, ta bonne humeur et ton humour qui m'ont aidée à traverser cette épreuve.

À mes parents,

Merci pour votre confiance, votre patience et votre soutien sans faille au cours de ces années d'études. Vous avez su me donner toutes les chances de réussir. Merci d'avoir toujours cru en moi, je ne serai pas arrivée là sans votre amour.

Maman, merci d'être aussi présente malgré la distance et d'avoir supporté mes mauvaises humeurs. Tu es un exemple pour moi par ta force, ta gentillesse et ta générosité.

Mon petit papa, merci de ton soutien pendant ces études, et pour m'avoir diverti lors de mes rares passages à St Malo. J'ai hérité de ton amour de la mer et peut-être un peu aussi de ton caractère... Merci de tout ce que tu fais pour moi.

À mon grand frère, Guillaume.

Tu as toujours veillé sur moi dans la discrétion et malgré la distance. Tu es un modèle et je sais que je pourrai toujours compter sur toi.

À Laurène, tu aimes les rencontres, le Nutella et la guitare ! J'apprécie énormément les week-ends passés ensemble et j'attends les prochains avec impatience !

À mes grands-parents, Papi et Mamie.

Je vous remercie d'être venu aujourd'hui ainsi que pour votre générosité et amour depuis bientôt 30 ans. Votre dynamisme est épatant et j'espère qu'il vous accompagnera encore de nombreuses années.

À ma famille du côté de la Normandie : **A ma zizine Alexandra, son mari Kiki** et mes petits amours de cousins, **Célian et Amau** qui grandissent toujours plus vite. **A mon Jojo et Cocota** qui rayonnent au quotidien. Je vous souhaite plein de bonheur avec la stroumpfette. **A mon Bibi,** mon premier fan ☺, **tonton Claude, tata Gigi,** et à **mamie Momone,** une vraie force de la nature ! Une pensée aussi pour la famille Goncalves, **Clément, Hugo, Céleste, Georges et Sophie** pour votre dynamisme à nos cousinades annuelles !

À mes cousins : **Valentin, Manon, Gabi et Etienne**

À ma famille d'adoption,

Valérie et Stéphan, c'est un grand plaisir que vous me faites d'être présents aujourd'hui. Merci de m'avoir si bien intégrée dans votre famille, de votre soutien et de votre générosité.

À la team, **Josselin, Auregann et Mariwenn !** Vous formez une équipe de choc, je vous admire pour votre unité et vous remercie de m'avoir accueillie parmi vous.

À **Kate, Théo et Antonin** pour les moments passés avec vous et ceux à venir !

À ceux qui sont partis trop prématurément mais veillent chaque jour sur nous, **Coco, Christophe et Bruno.**

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	19
I. Généralités sur le vitiligo	20
A. Définition et épidémiologie	20
B. Histologie du vitiligo	20
C. Formes cliniques de vitiligo	20
D. Association aux maladies auto-immunes et risque de cancer	22
II. Physiopathologie	23
A. Prédispositions génétiques	23
B. Vitiligo et stress oxydatif	25
C. Facteurs environnementaux	27
1. Phénomène de Koebner	27
2. Irradiation UV	28
3. Agents chimiques.....	28
D. Inflammation et immunité	29
1. Système immunitaire inné.....	29
2. Système immunitaire adaptatif.....	32
E. Homéostasie mélanocytaire et attachement à la membrane basale	38
III. Clinique du vitiligo non segmentaire	41
A. Formes de vitiligo non segmentaire (NSV)	41
B. Marqueurs d'activité clinique du vitiligo	43
1. Phases de stabilité	43
2. Phases de progression.....	43
3. Echelles d'évaluation.....	46
IV. Traitements	52
A. Traitements conventionnels	52
1. Traitements topiques.....	52
2. Photothérapie.....	53
3. Traitements combinés.....	54
4. Traitements systémiques.....	54
5. Chirurgie	55
6. Camouflage.....	55
7. Dépigmentation	55
B. Mesures générales	56
C. Nouveautés et perspectives thérapeutiques	57
1. Réduire le stress mélanocytaire.....	57
2. Réguler la réponse immunitaire	57
3. Stimuler la régénération mélanocytaire	60
RATIONNEL DU PROJET :	61
LES BIOMARQUEURS DANS LE VITILIGO	61
I. Biomarqueurs et vitiligo	62
A. Biomarqueurs sériques	62
1. Damage-Associated Molecular Patterns (DAMPs).....	62
2. Cytokines	63
3. Chémokines.....	65
4. Antigènes CD solubles.....	66
5. Anticorps sériques	67

B. Biomarqueurs cutanés.....	68
1. DAMPs.....	68
2. Cytokines.....	68
3. Chémokines.....	69
4. Antigènes CD solubles.....	69
5. Infiltrat par des cellules de l'immunité adaptative.....	70
II. Contexte du projet et objectifs de l'étude.....	71
A. Intérêt d'identifier des biomarqueurs.....	71
B. Objectifs de notre étude.....	71
<u>MATERIEL ET METHODES</u>.....	72
I. Description de l'étude.....	73
A. Format de l'étude.....	73
B. Données relatives aux patients.....	73
1. Critères d'inclusion et d'exclusion.....	73
2. Informations collectées.....	73
3. Evaluation clinique.....	74
4. Evaluation sérologique.....	75
C. Définition de l'activité et de l'extension du vitiligo.....	75
D. Choix des biomarqueurs.....	75
II. Technique ELISA.....	76
A. ELISA classique.....	76
1. Principes de l'ELISA sandwich colorimétrique.....	76
2. Analytes étudiés.....	77
B. ELISA Multiplex.....	78
1. Principes de l'immunodosage à base de billes.....	78
2. Analytes étudiés.....	80
III. Analyse statistique.....	82
<u>RESULTATS</u>.....	83
I. Caractéristiques cliniques et démographiques.....	84
A. Patients.....	84
B. Sujets témoins.....	84
II. Dosage des facteurs solubles.....	86
A. Analytes associés à l'immunité innée.....	86
B. Analytes associés à l'immunité adaptative.....	88
III. Etudes de corrélations.....	94
A. Entre biomarqueurs.....	94
B. Avec la clinique.....	96
<u>DISCUSSION</u>.....	98
I. Rappel des principaux résultats.....	99
II. Analyse des biomarqueurs entre patients et contrôles.....	100
A. Résultats concordants avec les données de la littérature.....	100
1. Marqueurs antérieurement étudiés dans le sérum de patients atteints de vitiligo.....	100
2. Marqueurs antérieurement suspectés dans le vitiligo sur des données non sériques.....	102

B. Résultats contradictoires ou inattendus	104
1. Biomarqueurs augmentés seulement chez les sujets stables.....	104
2. Biomarqueurs diminués chez les patients, notamment les sujets progressifs.....	106
III. Corrélations des biomarqueurs avec la clinique	108
A. Surface cutanée.....	108
B. Durée du vitiligo	108
IV. Limites de l'étude	109
A. Choix des patients	109
B. Puissance de l'étude.....	110
V. Perspectives	111
<u>CONCLUSION</u>	112
<u>ANNEXES</u>	115
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	122

ABBREVIATIONS

α -MSH :	α -melanocyte stimulating hormone
AC :	Anticorps
Ag :	Antigène
BSA :	Body Surface Area
CCR :	Récepteur aux chémokines CC
CD :	Cluster de Différenciation
CLA :	Cutaneous Lymphocyte-associated Antigen (Ag lymphocytaire cutané)
CMH :	Complexe majeur d'histocompatibilité
CPA :	Cellules présentatrices d'antigènes
CXCL :	(C-X-C motif) ligand
CXCR :	Récepteur aux chémokines CXC
DAMPs :	Damage-associated molecular patterns
DCs :	Cellules dendritiques
DT1 :	Diabète de type 1
FoxP3 :	Forkhead box P3
H ₂ O ₂ :	Peroxyde d'hydrogène
HMGB1 :	High-mobility group box 1 protein
HSP :	Heat Shock Protein
ICT :	Inhibiteurs de la Calcineurine Topique
IFN :	Interferon
IL :	Interleukine
JAK :	Janus Kinase
K-VSCOR :	Koebner's phenomenon in vitiligo score
LB :	Lymphocytes B
LES :	Lupus érythémateux systémique
LT :	Lymphocytes T
LTreg :	Lymphocytes T régulateurs
LT _{RM} :	Lymphocytes T résidents mémoires
MAI :	Maladie auto-immune
MICI :	Maladies inflammatoires chroniques intestinales
MMP :	Matrix metallo proteinase
MNO :	Corticoïdes en « mini-pulse oral »
NALP-1 :	NACHT leucine-rich-repeat protein 1
NLRP-1 :	NLR family pyrin domain containing 1
NSV :	Vitiligo Non Segmentaire
PAMPs :	Pathogen-associated molecular patterns
pDCs :	Cellules dendritiques plasmacytoïdes
PK :	Phénomène de Koebner
PR :	Polyarthrite rhumatoïde
PRRs :	Pattern recognition receptors
RE :	Réticulum endoplasmique
ROS :	Espèces réactives de l'oxygène
SCF :	Stem Cell Factor
STAT :	Signal transducer and activator of transcription
SV :	Vitiligo Segmentaire
TGO :	Anticorps anti-thyroglobuline
Tc :	Lymphocytes T cytotoxiques
Th :	Lymphocytes T helper (auxiliaire)
TNF :	Tumor necrosis factor
TPO :	Anticorps anti-thyroperoxydase
TYR :	Tyrosinase
UPR :	Unfolded Protein Response
UV :	Ultraviolet
VASI :	Vitiligo Area Scoring Index
VETF :	Vitiligo European Task Force
VGICC :	Vitiligo Global Issues Consensus Conference
XBP1 :	X-box binding protein 1

FIGURES

Figure 1. Vitiligo segmentaire	21
Figure 2. Examen en lumière de Wood	22
Figure 3. Importance de la voie IFN- γ -STAT1-CXCL10 dans la perte des mélanocytes (Strassner et al., 2016).	36
Figure 4. Implication du couple CXCL16-CXCR6 (Li et al., 2017).	37
Figure 5. Immunopathogénèse du vitiligo (Boniface et al., 2017)	40
Figure 6. Formes de vitiligo non segmentaire	42
Figure 7. Leucotrichie et halo-naevus.....	42
Figure 8. Classification du phénomène de Koebner (van Geel et al., 2011)	44
Figure 9. Lésions trichromes.....	45
Figure 10. Lésions inflammatoires	45
Figure 11. Dépigmentation en confettis.....	45
Figure 12. Score VETF (Taieb et al., 2007)	47
Figure 13. Echelle VASI (Seneschal et Boniface 2016, adapté de Hamzavi et al., 2004)	48
Figure 14. Vitiligo Extent Score (VES) (Van Geel et al., 2015)	49
Figure 15. Algorithme de prise en charge du vitiligo (Seneschal et Taieb, 2016)	56
Figure 16. Voie de l'IFN- γ -STAT1-CXCL10 et thérapies ciblées (Picardo et al., 2015)	58
Figure 17. Nouvelles thérapeutiques ciblées dans le vitiligo (adapté d'après Boniface et al., 2017)	59
Figure 18. ELISA sandwich colorimétrique (d'après le site Certara.com).....	77
Figure 19. Immunodosage à base de billes (d'après le site BioLegend.com).....	79
Figure 20. Analyse par ELISA des niveaux sériques de différentes cytokines et chémokines associées à une réponse immunitaire innée	87
Figure 21. Analyse par ELISA des niveaux sériques de différentes cytokines et chémokines associées à une réponse immunitaire adaptative.....	93
Figure 22. Etude de corrélation des biomarqueurs IFN- γ et CXCL10 avec les analytes présentant des niveaux dérégulés chez les patients atteints de vitiligo.....	95
Figure 23. Etude de corrélation de biomarqueurs présentant des niveaux dérégulés chez les patients atteints de vitiligo avec la surface corporelle atteinte et la durée du vitiligo	97

TABLEAUX

Tableau 1. Paramètres de laboratoire pour chaque analyte étudié.....	78
Tableau 2. Seuils de détection de la gamme étalon pour les analytes du panel « Human Inflammation » et « Human Proinflammatory Chemokine » de LegendPlex™	80
Tableau 3. Seuils de détection de la gamme étalon pour les analytes du 8-plex de LegendPlex™	81
Tableau 4. Seuils de détection de la gamme étalon pour le TGF-β de LegendPlex™	81
Tableau 5. Répartition des caractéristiques individuelles des 41 patients en fonction de l'activité du vitiligo.....	85

ANNEXES

Annexe 1. Questionnaire VETF.....	115
-----------------------------------	-----

INTRODUCTION

I. Généralités sur le vitiligo

A. Définition et épidémiologie

Le vitiligo est un trouble de la pigmentation chronique, acquis, touchant 0.5 à 1% de la population mondiale. Il s'agit de la première cause de dépigmentation acquise, caractérisée par des macules blanches de la peau et/ou des muqueuses, secondaire à la perte de fonction des mélanocytes épidermiques, et parfois folliculaires (1). Le vitiligo peut se développer à tout âge, mais concerne surtout le sujet jeune puisque près de la moitié des patients sont diagnostiqués avant l'âge de 20 ans. Il n'existe pas de différence de prévalence selon le sexe, le phototype et l'origine ethnique.

B. Histologie du vitiligo

L'analyse anatomopathologique est parfois réalisée face à une clinique non évidente, pour éliminer les diagnostics différentiels (1). Elle se caractérise par une disparition des mélanocytes de la couche basale de l'épiderme, tandis que ceux présents au niveau des follicules persistent le plus souvent. Les lésions précoces montrent une dermatose d'interface avec un infiltrat inflammatoire de cellules mononucléées. Les bordures de lésions en cours de progression peuvent révéler un infiltrat lymphocytaire péri-vasculaire et périfolliculaire.

A l'étude immunohistochimique, le MelanA (A103) ou l'HMB45 (Human Melanoma Black 45) permettent de confirmer la disparition des mélanocytes. La caractérisation de l'infiltrat inflammatoire a révélé la présence de cellules de l'immunité innée et adaptative infiltrant l'épiderme à proximité immédiate des mélanocytes (2-4).

C. Formes cliniques de vitiligo

La classification et la nomenclature du vitiligo ont été revues en 2012 lors du Vitiligo Global Issues Consensus Conference (VGICC) (5). Deux formes cliniques se distinguent :

- **Le vitiligo non segmentaire (NSV)**, présentation la plus fréquente avec près de 90% des cas. Il regroupe les formes généralisées de vitiligo.
- **Le vitiligo segmentaire (SV)**, plus rare (10% des cas), à début souvent précoce. Il se caractérise par des macules dépigmentées de distribution unilatérale, segmentaire, respectant le plus souvent la ligne médiane, une atteinte précoce du réservoir de mélanocytes folliculaires et une stabilisation rapide (figure 1).



Figure 1. Vitiligo segmentaire.

Blanchiment précoce des cils et sourcils.

Description clinique

Nous ne parlerons ici que du vitiligo non segmentaire, sous le terme de vitiligo. Il se caractérise par des macules ou des plaques dépigmentées bilatérales, augmentant en taille progressivement ou lors d'épisodes de poussées, avec une tendance à la symétrie (6). Classiquement, la dépigmentation est homogène, à bordure bien limitée et la peau atteinte est en apparence normale. Une hyperpigmentation à l'interface peau atteinte / peau normale peut être visualisée en cas d'exposition solaire.

Les lésions peuvent débuter à n'importe quel endroit du corps mais les doigts, les mains et le visage sont fréquemment les premiers atteints. Une dépigmentation des poils n'est généralement pas vue avant un stade avancé de la maladie et s'associe alors à un moins bon pronostic.

Les lésions sont asymptomatiques, mais un prurit est parfois rapporté avant leur apparition. Certains facteurs déclenchants ont été identifiés tels qu'un coup de soleil intense, un stress psychologique significatif ou encore un traumatisme cutané. Toutefois, dans la majorité des cas, la survenue du vitiligo est isolée.

Examen en lumière de Wood

L'examen en lumière de Wood réalisé en chambre noire augmente le contraste entre la zone normo-pigmentée et la zone lésionnelle, permettant ainsi d'apprécier l'étendue et l'intensité de la dépigmentation. C'est une aide précieuse, particulièrement dans l'évaluation palmo-plantaire des sujets à peau foncée et chez les sujets à phototype clair pour distinguer les lésions débutantes, halo-naevi et identifier les signes précurseurs de repigmentation. Cette technique permet aussi d'évaluer le statut pigmentaire des poils intra-lésionnels afin d'apprécier la réserve pigmentaire folliculaire (figure 2).

En lumière de Wood, la peau lésionnelle apparaît laiteuse, ce qui n'est pas observé dans d'autres hypomélanoses acquises. Les lésions actives à bordure hypochromique sont facilement détectées sous la forme d'une bordure grise marginale dans la peau péri-lésionnelle, bordure non retrouvée dans les lésions stables (7).

Des photographies cliniques en lumière naturelle et si possible en lumière ultraviolette (UV) sont recommandées afin d'évaluer avec précision l'étendue du vitiligo et de contrôler la repigmentation sous traitement.



Figure 2. Examen en lumière de Wood

D. Association aux maladies auto-immunes et risque de cancer

Le vitiligo présente des associations privilégiées avec d'autres maladies auto-immunes (MAI) telles que les thyroïdites auto-immunes, le diabète de type 1 (DT1), l'anémie de Biermer, la polyarthrite rhumatoïde (PR), la pelade, la maladie d'Addison, ou encore le lupus érythémateux systémique (LES). Certaines maladies inflammatoires sont aussi plus fréquentes comme les maladies inflammatoires de l'intestin (MICI), la dermatite atopique ou le psoriasis (8). Du fait de l'incidence accrue des thyroïdites auto-immunes, une exploration biologique thyroïdienne comprenant TSH, anticorps (AC) anti-thyroperoxydase (TPO) et anti-thyroglobuline (TGO) est préconisée lors du diagnostic de vitiligo. Les investigations immunitaires supplémentaires sont indiquées en cas de signe d'appel clinique ou biologique (9). Ces MAI sont également plus fréquentes chez les apparentés au premier degré d'un sujet atteint de vitiligo, indiquant qu'elles partagent au moins une partie de leurs fondements génétiques avec le vitiligo (cf. partie physiopathologie).

À l'inverse, les sujets avec vitiligo ont une réduction de risque de survenue de mélanomes et de cancers cutanés non mélaniques comparativement à la population générale (10–12). Ce remarquable paradoxe trouve une part explicative dans les gènes de susceptibilité du vitiligo (cf. partie physiopathologie).

II. Physiopathologie

La perte des mélanocytes dans le vitiligo est le résultat d'un mécanisme physiopathologique complexe et multifactoriel, intriquant des facteurs environnementaux, immunitaires et métaboliques chez des sujets génétiquement prédisposés (13,14). Nous ne parlerons ici que du vitiligo non segmentaire.

A. Prédispositions génétiques

L'hypothèse d'une transmission polygénique non mendélienne est soutenue par le constat d'une incidence accrue du vitiligo au sein d'une même famille : ainsi, près de 20% des patients rapportent avoir un apparenté au 1^{er} degré également atteint (15). De la même façon, un apparenté au 1^{er} degré d'un sujet atteint présente un risque d'environ 7% de développer un vitiligo, contre un risque de 0.5% dans la population générale. Enfin, la concordance du vitiligo chez des jumeaux monozygotes n'est que de 23%, soulignant l'importance des facteurs environnementaux (16).

Ces dernières années, grâce aux études génétiques d'association pan-génomiques, plus de 50 loci de susceptibilité au vitiligo ont été identifiés. La majorité des gènes associés à ces loci (près de 90%) codent pour des protéines liées à l'immunité (innée et adaptative).

Ainsi, certains de ces gènes codent pour les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (**CMH**) de classe I et II et favorisent l'activation immunitaire (17–19). L'association d'un loci de susceptibilité situé dans la région du CMH de type II et l'âge de survenue du vitiligo a aussi été rapportée, faisant suspecter que cette variation puisse induire une réponse aux déclencheurs environnementaux rencontrés au cours de la vie par des individus génétiquement sensibles, influençant ainsi l'âge d'apparition de la maladie (20).

Certains gènes du CMH de classe II sont contrôlés par le facteur de transcription **XBP1** (X-box binding protein 1), dont un polymorphisme génétique a été démontré dans une cohorte caucasienne en 2009 (21). Cette protéine XBP1 joue un rôle clef dans l'induction d'une réponse inflammatoire au stress du réticulum endoplasmique (RE) et dans la régulation des cellules dendritiques (22). En 2011, l'association de XBP1 au vitiligo a été confirmée (23).

Par ailleurs, une étude a pu montrer que la prédisposition au vitiligo et aux MAI qui lui sont fréquemment associées avait un lien fort avec un polymorphisme du gène **NALP-1** (NACHT

leucine-rich-repeat protein 1), secondairement renommé **NLRP-1** (NLR family pyrin domain containing 1) et que selon le variant génétique impliqué, les sujets étaient à risque de déclencher un vitiligo seul, une MAI, ou les deux (24,25). Cela s'explique par la participation de la protéine NALP-1 à la régulation de l'inflammasome, de l'apoptose cellulaire, du système immunitaire inné et de certaines maladies inflammatoires ou auto-immunes. Aussi, l'identification de variants fonctionnels de **IFIH1** (Interferon Induced Helicase C Domain 1), récepteur entraînant l'activation de la voie de l'interféron (IFN) de type I, jouerait un rôle central dans l'activation du système immunitaire inné (23).

Concernant les gènes liés à la régulation de l'immunité adaptative, il a été rapporté l'association au vitiligo de **FoxP3** (Forkhead box P3), codant la protéine du même nom, marqueur des lymphocytes T (LT) régulateurs et de **TSLP** (Thymic stromal lymphopoietin), cytokine impliquée dans l'inflammation en stimulant les cellules dendritiques, monocytes et LT helper (Th) (23).

De plus, un polymorphisme du gène codant la protéine **PTPN22** (Protein tyrosine phosphatase, non receptor type 22) s'est révélé associé à une susceptibilité au vitiligo dans la population européenne (27). Cette protéine, localisée principalement dans le cytosol des cellules immunitaires, est impliquée dans les voies de signalisation associées à la réponse immunitaire, principalement les voies de signalisation des récepteurs des LT (TCR) et LB (BCR). A l'inverse, la faible association avec le vitiligo du **CTLA4** (Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4), dont le rôle est essentiel à l'inhibition de l'activation des cellules T et à la tolérance périphérique, semble plutôt refléter l'association primaire du CTLA4 avec d'autres MAI avec lesquelles le vitiligo est épidémiologiquement lié plutôt que l'association génétique primaire réelle entre CTLA4 et vitiligo (28).

Dans une moindre mesure, certains des loci de susceptibilité codent pour des gènes impliqués précocement dans le développement mélanocytaire comme **FOXD3** (Forkhead box D3), régulateur clef de la différenciation de la lignée mélanoblastique dans la crête neurale embryonnaire (29,30).

D'autres interviennent dans les fonctions mélanocytaires comme l'identification du locus contenant **TYR** (31), codant la tyrosinase, enzyme mélanosomale qui catalyse les étapes limitantes de la biosynthèse de la mélanine et constitue un autoantigène majeur dans le vitiligo généralisé (32).

Le gène **OCA2** (Oculocutaneous albinism II) codant la protéine P qui intervient dans le transport mélanosomal de la tyrosine, ainsi que le gène **MC1R** (MelanoCortin 1 Receptor), codant un récepteur hormonal favorisant la mélanogénèse, sont également impliqués (33).

Aussi, il a été montré une relation inverse entre la susceptibilité génétique au vitiligo et la susceptibilité génétique au mélanome médiée par **TYR** et **HLA** (human leukocyte antigen)-**A*02**, dont la relation apparente mutuellement exclusive suggère que le vitiligo résulte, en partie, du dérèglement des processus normaux de la surveillance immunitaire contre le mélanome (31,34).

Enfin, un polymorphisme du gène de la **catalase** a été retrouvé, altérant sa fonction enzymatique anti-oxydante de suppresseur du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (35). Ce gène était suspecté du fait de la réduction de l'activité catalase et de l'accumulation concomitante d' H_2O_2 dans l'ensemble de l'épiderme de patients avec vitiligo (36).

Ces dernières années ont donc permis d'identifier certaines prédispositions génétiques impliquant notamment l'immunité, confortant la nature auto-immune / inflammatoire du vitiligo (21,31). Toutefois, le rôle de la plupart des loci de susceptibilité identifiés reste à définir.

B. Vitiligo et stress oxydatif

De nombreuses études ont suggéré qu'une hypersensibilité des mélanocytes au stress oxydatif jouait un rôle crucial dans leur disparition (37).

Ainsi, il a été mis en évidence une **augmentation épidermique de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS : Reactive oxygen species)**, représentées par le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le peroxyde d'azote dans la peau de sujets atteints (36).

Cette augmentation de ROS épidermiques peut résulter d'un certain nombre d'événements externes comme un traumatisme, une irradiation UV intense, une exposition à certains produits chimiques (38), mais elle peut aussi résulter d'événements internes, comme l'augmentation de leur production ou une défaillance des mécanismes d'oxydo-réduction. Le métabolisme cellulaire normal des mélanocytes est à lui seul un grand pourvoyeur de ROS du fait du nombre de réactions impliquées dans la mélanogénèse.

Aussi, une **altération de la voie des biotérides** a été démontrée dans l'épiderme de sujets présentant un vitiligo. Le couple tétra/di-hydrobiotéride sert de cofacteur enzymatique réducteur et est nécessaire au fonctionnement d'hydroxylases aromatiques comme la phénylalanine hydroxylase, la tyrosine hydroxylase, et la tryptophane hydroxylase. La défaillance de cette voie entraîne l'accumulation de tétrahydrobiotérides qui par conséquent inhibent l'activité d'enzymes anti-oxydantes impliquées dans la mélanogénèse telles que la phénylalanine hydroxylase et la tyrosinase (39) et stimulent la production d' H_2O_2 (36,40). Par ailleurs, l'accumulation des tétrahydrobiotérides épidermique engendre une synthèse accrue de catécholamines par les kératinocytes, qui se traduit par un excès de norépinéphrine plasmatique et urinaire (41).

De plus, en situation normale, la superoxide dismutase (SOD), enzyme anti-oxydante, catalyse la dismutation de l'ion superoxide O_2^- en oxygène (O_2) et H_2O_2 . Ensuite, la catalase convertit H_2O_2 en eau et oxygène (H_2O et O_2). Une **baisse de la catalase, mais aussi d'autres agents anti-oxydants** tel que la glutathion peroxydase, la G6PD (glucose-6-phosphate déshydrogénase), et la dihydropterine reductase ont été détectés dans l'épiderme et le sérum de patients avec vitiligo (42–45). Par conséquent, pour éliminer les niveaux accrus d' O_2^- , **les taux épidermiques et sanguins de la superoxide dismutase sont augmentés** (46,47). L'ensemble soutient l'hypothèse d'un système redox défectueux.

En outre, **une activité mitochondriale défaillante** a aussi montré son implication dans la dérégulation du statut redox (48,49).

Enfin, des études plus récentes ont souligné l'implication du facteur de transcription **Nrf2** (Nuclear factor erythroid-2-related factor 2) qui contrôle l'expression des gènes anti-oxydants et cytoprotecteurs via la séquence régulatrice appelée élément de réponse anti-oxydant (**ARE**). Cette **voie Nrf2-ARE** protège donc les mélanocytes humains des dommages causés par H_2O_2 via l'induction de gènes anti-oxydants en aval, tels que l'hème oxygénase-1 (HO-1) (50). Il a été démontré que dans les mélanocytes de sujets atteints, la translocation nucléaire de Nrf2 est réduite, se traduisant par une baisse des taux sériques de HO-1, augmentant ainsi la sensibilité des mélanocytes au stress oxydatif et à l'autophagie (51,52).

Cette accumulation de ROS est délétère pour l'organisme : les ROS peuvent oxyder les bases de l'ADN, oxyder de multiples enzymes cytosoliques utiles à la défense de

l'organisme contre le stress oxydatif, comme la catalase, la glutathion peroxydase, la dihydroptérine reductase, ou encore oxyder l'ACTH (adrénocorticotrophine hormone) et l' α -MSH (α -melanocyte stimulating hormone) dont le rôle est crucial au maintien d'une mélanogénèse efficace.

L'excès de ROS créé également des dommages membranaires, avec une perte d'activité des protéines ancrées, ainsi qu'une fragilité cellulaire à des agents externes ou internes tels que les UV, cytokines, catécholamines, etc.

L'expression membranaire ou la libération de protéines ainsi altérées constituent des activateurs du système immunitaire en exposant de « nouveaux » antigènes.

C. Facteurs environnementaux

Les facteurs environnementaux jouent sur l'ensemble des mécanismes impliqués dans la physiopathologie du vitiligo, qu'il s'agisse des altérations métaboliques, du stress oxydatif, de la génération de médiateurs de l'inflammation, du détachement cellulaire ou de la réponse immunitaire observée. Parmi ces facteurs environnementaux, on distingue :

1. Phénomène de Koebner

Le phénomène de Koebner (PK) correspond au développement de lésions cutanées sur une peau saine traumatisée de patients atteints d'une dermatose (53). Initialement décrit au XIX^{ème} siècle par le dermatologue allemand Heinrich Koebner dans le psoriasis, le PK existe aussi dans d'autres dermatoses, dont le vitiligo. Les mécanismes induisant le PK peuvent être de toute nature : physiques (coupures, griffures), mécaniques (frottements, pressions chroniques), chimiques / thermiques (brûlures), allergiques, irritants, ou encore iatrogènes (radiothérapie, photothérapie etc).

En 2003, Gauthier et al. ont observé un détachement de quelques mélanocytes 4 et 24 heures après un traumatisme mineur (friction) réalisé en peau non lésionnelle de sujets atteints de vitiligo, suivi de l'élimination trans-épidermique de ces mélanocytes (54). Ils ont alors proposé que cette adhésion défectueuse et perte des mélanocytes, nommée « mélanocytorrhagie », soit la conséquence de la friction et du PK (55).

Plus récemment, les études semblent aller dans le sens d'une intrication de plusieurs

mécanismes au PK, qui chez des sujets prédisposés, participeraient à la survenue d'une dépigmentation : défaut d'adhésion mélanocytaire, stress oxydatif avec déséquilibre du statut redox, implication du système immunitaire, ou encore une altération des facteurs de croissance mélanocytaires (56).

2. Irradiation UV

Du fait de leur localisation épidermique, les mélanocytes sont exposés en permanence au rayonnement UV, engendrant un stress oxydatif épidermique, normalement régulé par les systèmes anti-oxydants. Un polymorphisme du **gène COX-2** (Cyclo-oxygénase-2) pourrait influencer le risque de vitiligo. En effet, COX-2 intervient dans la production par les kératinocytes de la prostaglandine E2 (PGE2) en réponse à une irradiation UV. Cette PGE2 induit la prolifération des mélanocytes et la mélanogénèse. Ainsi, la perte de COX-2 pourrait conduire au vitiligo (57).

3. Agents chimiques

Depuis plusieurs dizaines d'années, la survenue d'une dépigmentation cutanée chez des individus exposés au monobenzyl éther d'hydroquinone (MBEH) et au 4-tert butylphénol (4-TBP) était constatée, cliniquement et histologiquement indiscernable du vitiligo non chimiquement induit (58). La caractéristique commune partagée par ces produits incriminés est leur structure chimique comprenant un groupe phénol, dont la similitude avec la tyrosine en fait un compétiteur dans la mélanogénèse (59).

Toutefois, une étude japonaise concernant le rhododendrol, molécule très utilisée en Asie et proche du 4-TBP, notait que seuls 2% des sujets exposés développaient un vitiligo et 5% une dépigmentation à distance. Ces données soutiennent l'implication d'un mécanisme indirect de dépigmentation, qui après une phase initiale d'induction se propagerait secondairement en peau non exposée, chez des individus génétiquement prédisposés (60).

Par ailleurs, d'autres études ont montré que sous l'action d'agents chimiques, les mélanocytes présentent une hyperproduction de ROS, aux conséquences délétaires sur l'environnement cutané, comme nous l'avons vu précédemment.

Au total, ces facteurs environnementaux participent à l'induction d'un stress cellulaire et à la création d'un environnement pro-inflammatoire activateur du système immunitaire.

D. Inflammation et immunité

L'implication du système immunitaire dans la physiopathologie du vitiligo est soutenue par différents arguments, génétiques, épidémiologiques et cliniques ainsi qu'histologiques comme cela a été discuté dans les paragraphes précédents. Il intrique à la fois le système immunitaire inné et adaptatif. Le rôle majeur de cette inflammation et auto-immunité silencieuse est démontrable, en particulier pendant la phase de progression de la maladie.

1. Système immunitaire inné

Stress cellulaire et libération de DAMPs

Les mélanocytes et kératinocytes soumis à un stress ont une **hyperproduction de ROS intracellulaires**, affectant leurs fonctions cellulaires. Ainsi, un **stress du RE** perturbe son rôle de repliement des protéines entraînant l'accumulation de protéines immatures qui activent la « réponse aux protéines non repliées » (**UPR** : Unfolded Protein Response) (61). En réponse au stress, aux dommages cellulaires ainsi qu'à l'activation de l'UPR, les cellules libèrent dans le milieu environnant des molécules du soi, nommées patterns moléculaires associés aux dommages cellulaires (**DAMPs** : damage-associated molecular patterns), **des exosomes** chargés d'antigènes (Ag), mais aussi des **signaux pro-inflammatoires** comme les interleukines (**IL**)-6 et **IL-8** induites par XBP-1. Les voies de **l'autophagie** sont également initiées. Parmi les DAMPs libérés, on distingue par exemple la protéine chaperone HSP (Heat Shock Protein)-70, la protéine S100B, la calréticuline et l'HMGB1 (High-mobility group box 1) :

- **Les HSP** sont des molécules chaperones essentielles au maintien des fonctions cellulaires. Les HSP-70 inductibles libérées dans le milieu extra-cellulaire par les mélanocytes mais aussi par les kératinocytes en contexte inflammatoire peuvent interagir avec des cellules immunitaires comme nous le détaillerons plus loin. HSP-70 induit aussi l'expression membranaire d'une cytokine TRAIL impliquée dans l'apoptose (62).

- **L'HMGB1** est une protéine nucléaire de liaison à l'ADN régulant l'accès des facteurs de transcription. A l'occasion d'un stress, elle est libérée par les kératinocytes dans le milieu extracellulaire et est reconnue par certains récepteurs cellulaires, induisant la production d'IL-6 et TNF- α (Tumor necrosis factor). L'augmentation de ses taux dans le sang et la peau de sujets atteints de vitiligo rendent compte de son implication (63). Enfin, cette protéine, via l'activation de la caspase 3 contribue à l'apoptose mélanocytaire (63).

- Il a aussi été montré que les mélanocytes soumis à un stress exprimaient en surface la **calréticuline**, protéine impliquée dans l'homéostasie calcique du RE. Son expression membranaire constitue aussi un signal de mort cellulaire par apoptose et phagocytose. De plus, elle induit la production de cytokines pro-inflammatoires (IL-6 et TNF- α) par les cellules mononucléées et mélanocytaires (64).

- Enfin la protéine **S100B** est une protéine de liaison au calcium intracellulaire impliquée dans les activités de régulation intracellulaire et extracellulaire. Elle semble participer au développement du vitiligo. En effet, ses taux sériques apparaissent positivement corrélés à l'activité du vitiligo et à la surface corporelle atteinte de sujets ayant une maladie active comme nous le développerons ultérieurement (65).

Les DAMPs libérés sont pris en charge par des récepteurs reconnaissant des patterns (**PRRs** : pattern recognition receptors) situés entre autre à la surface des cellules immunitaires et capables d'initier une réponse immunitaire innée rapide.

Implication de l'inflammasome

Parmi ces PPRs, l'activation de certains Toll-like récepteurs (**TLR**) de surface entraîne l'assemblage de **l'inflammasome NALP-1**, régulateur clef de la réponse immunitaire innée principalement exprimé par les cellules T et les cellules de Langerhans. L'inflammasome NALP-1 active ensuite la **caspase-1**, permettant la maturation de **l'IL-1 β** et **l'IL-18**, cytokines impliquées dans l'inflammation. Les taux sériques de cette IL-1 β sont élevés chez les patients avec vitiligo (66), confortant l'implication de cette voie. NALP-1 induit également les voies de l'apoptose.

Recrutement de cellules de l'immunité innée

La libération de DAMPs, d'exosomes chargés d'antigènes et de cytokines pro-inflammatoires favorise le recrutement et l'activation des cellules de l'immunité innée. Ainsi, des cellules dendritiques plasmacytoïdes (pDCs), natural killer (NK) et macrophages sont retrouvés en peau péri-lésionnelle des sujets atteints de vitiligo (3,67).

Tout particulièrement, HSP-70 interagit avec les pDCs. Ces pDCs constituent un sous type de cellules dendritiques (DCs) spécialisées dans la production d'IFN de type I (IFN- α/β) mais ont également des capacités de présentation antigénique démontrée (68). Ainsi, il apparaît que HSP-70 potentialise le recrutement et l'activation des pDCs. Cela se traduit par une production locale accrue d'IFN- α par ces cellules (69). Cette voie pDCs/IFN- α représente un des mécanismes reliant l'immunité innée et adaptative puisque l'IFN- α induit l'expression de chémokines attractives des lymphocytes.

Par ailleurs, les Ag libérés ou exprimés en surface des cellules (comme la calréticuline) sont pris en charge par les DCs et autres cellules présentatrices d'antigènes (CPA) qui initient une réponse cellulaire T spécifique dirigée contre ces Ag (62).

Les DCs jouent donc un rôle crucial dans l'induction de la maladie (69).

2. Système immunitaire adaptatif

Le système immunitaire inné est donc l'activateur du système adaptatif, dont la mise en route est plus longue mais la réponse plus spécifique. On distingue :

L'immunité humorale

- Certaines études suggèrent une participation de l'immunité humorale dans la physiopathogénie du vitiligo :

Les premières investigations dans le vitiligo ont mis en évidence des taux élevés d'AC circulants dirigés contre des antigènes mélanocytaires, capables de dommages mélanocytaires *in vitro* (70) et *in vivo* (71). Les cibles antigéniques interviennent dans la mélanogénèse comme la tyrosinase, la tyrosinase-related protein (TRP)-1, TRP-2 ou constituent des composants structuraux des mélanosomes comme la glycoprotéine 100 (gp100), MART-1 (melanoma antigen recognized by T-cells-1) ou encore le récepteur membranaire de type 1 à l'hormone de mélano-concentration (MCH-R1) (72,73).

Toutefois, ces AC ciblant des protéines du soi ont aussi pu être identifiés chez des sujets sains, indépendamment du développement ultérieur d'un vitiligo. C'est pourquoi le rôle de ces auto-AC ainsi que celui des lymphocytes B (LB) dans la pathogénie du vitiligo reste encore à clairement démontrer.

L'immunité cellulaire

- L'immunité cellulaire : rôle central des LT dans la dépigmentation :

Les LT ont un rôle majeur dans l'immunité cellulaire. Après activation par les CPA, les LT CD4 et CD8 naïfs se différencient respectivement en LT auxiliaires (ou LT helper (Th)) et en LT cytotoxiques (Tc). Cette différenciation est fonction entre autre de l'environnement cytokinique, de la nature de la liaison du peptide avec le CMH et des molécules de co-stimulation. Différentes sous-populations de LT auxiliaires ont été identifiées, telles que les cellules Th1, Th2, Th17 et les LT régulateurs (LTreg), définies en fonction de l'expression de marqueurs de surface spécifiques et d'un profil de sécrétion de cytokines particulier. Les cellules Th1 expriment le récepteur des chémokines CXCR3 et sécrètent principalement l'IFN- γ et le TNF- α , les cellules Th2 se caractérisent par l'expression du CrTh2 et produisent de l'IL-4, l'IL-5 et l'IL-13, alors que les cellules Th17, caractérisées par l'expression du CCR6, produisent principalement l'IL-17. Les LTreg expriment le CD25 et FoxP3 à l'état basal et produisent le TGF- β et l'IL-10. Les sous-populations sont similaires pour les cellules CD8 cytotoxiques (Tc1, Tc2 et Tc17).

Sur le plan sanguin, il a été montré que le nombre de LT CD8⁺ circulants est d'autant plus important que le vitiligo est actif, ce qui se traduit par une baisse significative du ratio CD4⁺/CD8⁺ (74). La normalisation des taux des LT CD8⁺ activés semble précéder la stabilisation du vitiligo, témoignant de leur rôle majeur (4). De plus, des LT CD8⁺ spécifiques des Ag mélanocytaires ont été identifiés (75,76) et certaines études soutiennent un rôle direct des LT CD8⁺ cytotoxiques dans le vitiligo (4,75,76). Toutefois, ce mécanisme de mort mélanocytaire par cytotoxicité directe n'explique probablement pas à lui seul la perte des mélanocytes comme le suggèrent d'autres études (55,77).

A l'inverse, la proportion de LTreg, dont le rôle est de maintenir une tolérance périphérique vis à vis des LT auto-réactifs, apparaît diminuée chez les patients au vitiligo actif comparativement aux patients stables et aux sujets sains (74,78,79). Chez ces sujets, un défaut fonctionnel des LTreg périphériques semble aussi impliqué (80–82). De plus, Lili et al. ont observé que le pourcentage de cellules Treg circulantes augmentait significativement après stabilisation thérapeutique du vitiligo, suggérant que ces Treg reflétaient l'activité de la maladie (4).

Enfin, certains lymphocytes expriment des molécules de domiciliation comme le CLA (Cutaneous Lymphocyte-associated Antigen), facilitant leur recrutement au niveau cutané (83).

Sur le plan cutané, la dépigmentation dans le vitiligo progressif s'accompagne d'un infiltrat inflammatoire péri-lésionnel, composé de LT CD4⁺ et CD8⁺, non retrouvé dans le vitiligo stable (83,84). Parallèlement aux observations faites dans le sang, une baisse du ratio CD4/CD8 cutané a aussi été suggérée, témoignant de l'importance des LT CD8⁺ dont une action cytotoxique envers les mélanocytes a pu être mise en évidence *ex vivo* en peau péri-lésionnelle (74,75,84). Plus récemment, la présence de cellules T spécifiques des mélanocytes dans la peau de sujets avec vitiligo a été confirmée (75,77).

De plus, une réduction des LTreg lésionnels et péri-lésionnels a été rapportée (85), dont leur fonction de contrôle de la prolifération et de l'action des LT CD8⁺ semble altérée (4,74).

Récemment, sur le constat qu'après une repigmentation le vitiligo réapparaissait sur le même site anatomique, l'équipe de recherche de J. Seneschal et K. Boniface a démontré l'implication de lymphocytes T mémoires résidents (LT_{RM}) en périphérie des lésions actives et stables. Ces LT_{RM} cutanés appartiennent aux cellules T mémoires non circulantes et ont la

capacité d'initier une réponse immunitaire rapide envers un pathogène ou un Ag étranger déjà rencontré (86). Ils ont un phénotype T effecteur mémoire et expriment le CD69 et le CD103 (marqueurs de rétention tissulaire), ainsi que des récepteurs de domiciliation cutanée comme le CLA et le récepteur de chémokines CCR4. Ces lymphocytes T expriment le récepteur des chémokines CXCR3 pour la majorité. Si ces cellules ont un rôle protecteur contre la plupart des pathogènes rencontrés, leur activation aberrante pourrait contribuer à certaines maladies inflammatoires, comme démontré dans le psoriasis (87). Dans le vitiligo, ces LT_{RM} produisent des niveaux élevés des cytokines inflammatoires IFN- γ et TNF- α en particulier chez les patients présentant une maladie en cours de progression, avec une activité modérément cytotoxique. Ainsi, la présence de ces cellules résidentes pourrait jouer un rôle dans les poussées de vitiligo, et soutient que le vitiligo est une maladie cutanée à mémoire immunitaire (77).

Cytokines

- Implication de cytokines pro-inflammatoires liées à une réponse de type Th1 et Th17

Une modification de la production de cytokines sériques et cutanées de sujets atteints de vitiligo a pu être démontrée. Les LT (résidents ou non) ainsi que les autres cellules immunitaires participent à créer cet environnement inflammatoire. Les kératinocytes jouent aussi un rôle fondamental.

Ainsi, les LT péri-lésionnels présentent un profil de sécrétion de cytokines de type Th1 (88), parmi lesquelles l'IFN- γ , sécrété à la fois par les LT CD4 et CD8, joue un rôle central dans la pathogénie de la maladie (2,67,77). En effet, des études murines ont montré l'importance de l'IFN- γ dans l'homéostasie de la pigmentation épidermique et le vitiligo (2,89).

Le TNF- α est l'autre cytokine majeure sécrétée par la grande majorité des lymphocytes péri-lésionnels CD4 et CD8. En agissant sur différentes populations cellulaires, le TNF- α contribue à la perte des mélanocytes, l'inhibition de la mélanogénèse ainsi qu'à l'apoptose des kératinocytes (90,91).

Aussi, comme vu précédemment, les pDCs sécrètent de l'IFN- α . Ce dernier induit l'expression de CXCL9 et CXCL10, deux chémokines essentielles au recrutement des LT exprimant leur récepteur CXCR3. L'IFN- α contribue ainsi à la mise en place de la réponse adaptative (67,69).

Plus récemment, une réponse de type Th17 a été individualisée, se traduisant par une élévation des taux d'**IL-17** dans l'épiderme lésionnel et le sang de sujets atteints (92). L'implication de cette cytokine, principalement produite par les LT CD4 auxiliaires est aussi connue dans d'autres MAI comme la sclérose en plaque, la PR, les MICI ou encore le psoriasis. L'**IL-17** est capable d'induire la libération de cytokines pro-inflammatoires par les cellules cutanées résidentes activées (fibroblastes, kératinocytes, cellules endothéliales et macrophages) tels que l'**IL-1**, l'**IL-6**, et le **TNF- α** , entraînant des modifications morphologiques, une baisse de synthèse de la mélanine et une moindre prolifération des mélanocytes (93,94). Cependant, une récente étude rapporte une expression d'**IL-17** par les LT cutanés comparable entre les patients avec vitiligo et les contrôles, mais significativement inférieure aux sujets avec psoriasis, suggérant un rôle moindre de l'**IL-17** dans le vitiligo alors qu'elle tient une place centrale dans le psoriasis (77).

D'autres cytokines pro-inflammatoires comme l'**IL-1 β** , l'**IL-6** ou encore l'**IL-2**, l'**IL-23** et l'**IL-33** produites par différentes cellules impliquées dans la physiopathologie du vitiligo apparaissent aussi augmentées dans la peau et/ou le sang de patients (77,95–99).

A l'inverse, les taux de **TGF- β** et d'**IL-10**, associés à une réponse anti-inflammatoire, semblent diminués dans les lésions actives de vitiligo ce qui pourrait contribuer à la réduction et à la perte de fonction des LTreg. En effet, ces deux cytokines sont des inducteurs physiologiques de la fonction et de la prolifération des LTreg (95,100).

Ainsi, si de multiples cytokines apparaissent impliquées dans la physiopathologie du vitiligo, le **TNF- α** et l'**IFN- γ** semblent être deux cytokines majeures de la perte des mélanocytes.

Chémokines

- Voie IFN- γ -STAT1-CXCL10 : voie majeure de la progression et du maintien du vitiligo

Des études murines ont révélé l'importance de l'axe IFN- γ -STAT1 (signal transducer and activator of transcription)-CXCL10 dans le développement de la dépigmentation cutanée. L'IFN- γ active la translocation nucléaire du facteur de transcription STAT1 via les Janus Kinases (JAK), ce qui permet l'expression des chémokines CXCL10 et CXCL9, qui stimulent le recrutement à l'épiderme des LT CD8⁺ auto-réactifs exprimant leur récepteur CXCR3

(figure 3). Ces LT dirigés contre les mélanocytes de patients atteints de vitiligo sont retrouvés à la fois au niveau cutané et sanguin (2,77,101).

Aussi, les taux de CXCL9 et CXCL10 sont tous deux élevés dans la peau et le sérum de patients avec vitiligo (67,102).

Une fois que la réponse des cellules T est établie, l'axe de signalisation IFN- γ -STAT1-CXCL10 devient la voie inflammatoire primaire de la progression et du maintien du vitiligo.

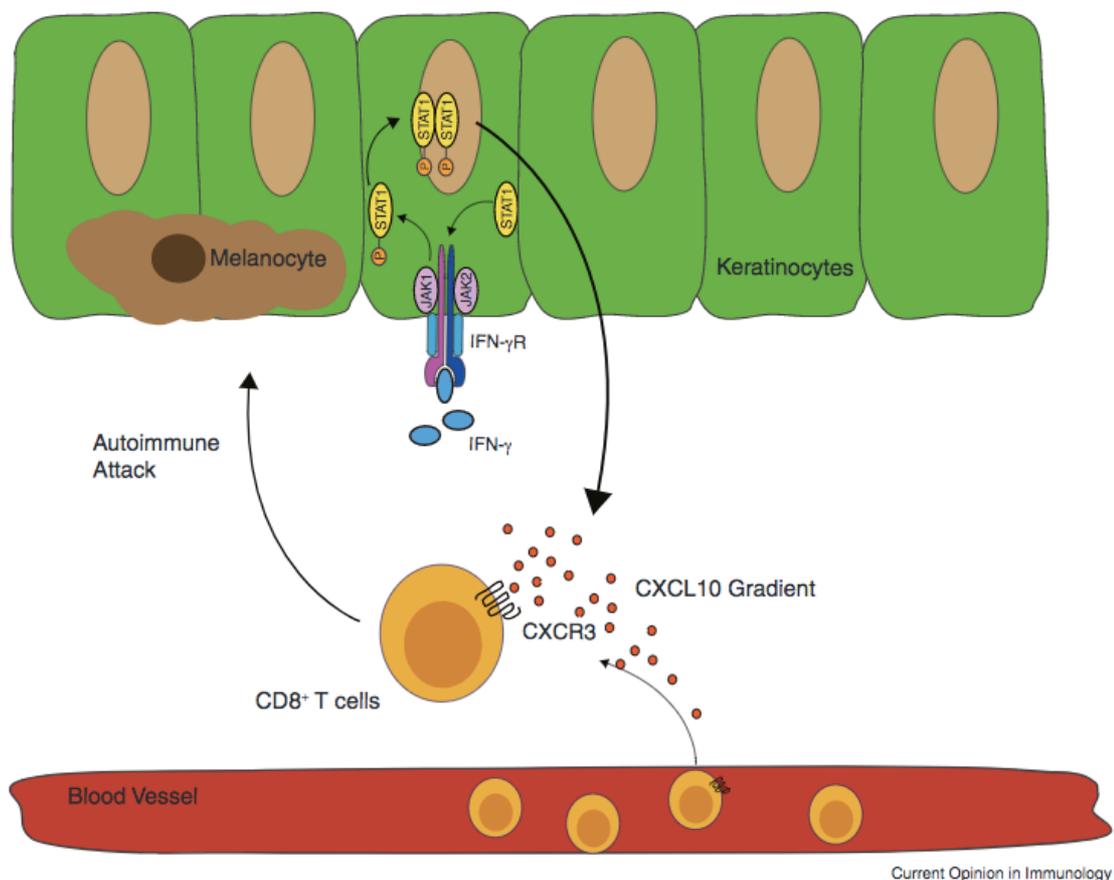


Figure 3. Importance de la voie IFN- γ -STAT1-CXCL10 dans la perte des mélanocytes : la signalisation IFN- γ induit la transcription de gènes dont CXCL9 et CXCL10 via l'activation des Januses Kinases (JAK) et de STAT1. CXCL9 et CXCL10 facilitent le recrutement à l'épiderme des LT CD8⁺ et CD4⁺ exprimant leur récepteur CXCR3 (Strassner et al., 2016).

- Autres chémokines impliquées

Les mélanocytes stressés libèrent des cytokines, comme vu précédemment, mais aussi des chémokines. Ainsi, une sécrétion importante de **CXCL12** et **CCL5** par les mélanocytes de lésions précoces de vitiligo (<2mois) a été montrée. Ces chémokines sont aussi impliquées dans le recrutement (homing) des cellules immunitaires (LT et CPA) exprimant leurs récepteurs CXCR4 et CCR3 respectivement (103).

La chémokine **CXCL16**, libérée par les kératinocytes en réponse à un stress, participe aussi au recrutement de LT CD8⁺ exprimant le récepteur de cette chémokine : CXCR6. Cette libération fait suite à l'activation de 2 voies d'UPR intra-kératinocytaires et s'accompagne de la perte des mélanocytes dans les lésions de sujets avec vitiligo (figure 4). Les données *in vitro* ont aussi révélé que le couple CXCL16-CXCR6 jouait un rôle plus spécifique sur la migration des LT CD8⁺ induite par les ROS que le couple CXCL10-CXCR3 (104).

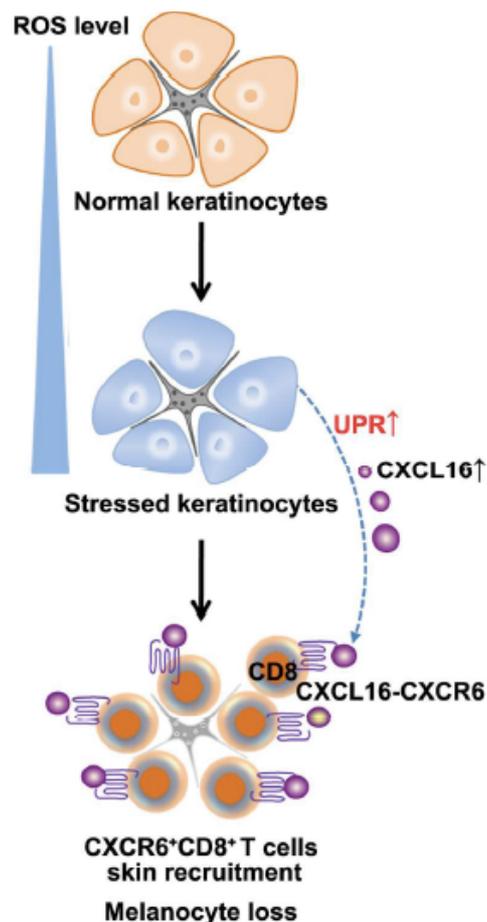


Figure 4. Implication du couple CXCL16-CXCR6 : dans un micro-environnement enrichi en ROS, les kératinocytes stressés présentent une sécrétion accrue de CXCL16 via l'activation de l'UPR. Cette chémokine facilite le recrutement épidermique de LT CD8⁺ CXCR6⁺, puis la perte des mélanocytes (Li et al., 2017).

E. Homéostasie mélanocytaire et attachement à la membrane basale

Si le rôle de l'immunité semble majeur dans la disparition épidermique des mélanocytes, une dérégulation métabolique propre à ces cellules a été évoquée (105). Cette théorie est soutenue par le constat **d'anomalies morphologiques mélanocytaires** en microscopie électronique (vacuoles lipidiques, dilatation du RE, compartimentation et disjonctions intercellulaires) (106) **et d'anomalies fonctionnelles** aux cultures mélanocytaires de patients avec vitiligo : allongement des temps de latence et diminution de la réplication cellulaire, défaut d'attachement (107). Différentes études étayaient cette hypothèse :

- Les mélanocytes dans le vitiligo expriment un phénotype ressemblant à une sénescence prématurée. En effet, il a été constaté des anomalies des signaux des voies de transduction ainsi qu'une production de cytokines dont le profil (IL-6, matrix metallo proteinase-3 (MMP3), cyclooxygenase-2 (Cox-2), insulin-like growth factor-binding protein-3 and 7 (IGFBP3, IGFBP7)) rappelle celui de certaines maladies neuro-dégénératives (108).

- Une déficience de la voie de la mélanogénèse a été proposée : **MITF** (microphthalmia-associated transcription factor) est un facteur clef de la transcription des gènes impliqués dans la mélanogénèse comme TRP-1. Le stress oxydatif et/ou la perte de signal du SCF (Stem Cell Factor)/cKIT réduirait la phosphorylation activatrice de MITF, entraînant une déficience de la mélanogénèse et un défaut de programmation du cycle cellulaire responsable d'apoptose (93). De même, **la voie de signalisation Wnt** est altérée spécifiquement en peau lésionnelle (109). Or cette voie Wnt/ β -caténine joue un rôle clef dans la différenciation des cellules souches mélanocytaires en mélanoblastes sous l'action des UVB (110).

- Perte des mélanocytes : Suite au détachement mélanocytaire mis en évidence par l'équipe de Gauthier (54), les protéines d'adhésion cellulaire ont été étudiées, notamment la **E-Cadhérine** qui est une protéine majeure pour l'adhésion des mélanocytes aux kératinocytes et à la membrane basale. Une baisse d'expression de cette protéine par les mélanocytes en peau non lésionnelle a été démontrée. Ainsi, en conditions de stress mineures (mécanique ou oxydatif), les mélanocytes se détachent de la membrane basale épidermique et s'éliminent à travers l'épiderme, réalisant le phénomène de mélanocytorrhagie (55,111).

Plus récemment, une **baisse d'expression d'autres molécules d'adhésion** (laminine, beta-1 intégrine et VCAM-1) dans la peau atteinte a été rapportée (112).

- Une altération des échanges entre le derme et l'épiderme affectant l'homéostasie des mélanocytes est également suggérée (113). En effet, les mélanocytes interagissent et sont influencés par les kératinocytes et fibroblastes dermiques. Ainsi, les facteurs qu'ils sécrètent peuvent inhiber la mélanogénèse tels que l'IL-1, l'IL-6, le TNF- α , ou à l'inverse la favoriser comme avec l' α -MSH. Les kératinocytes ont aussi montré une expression insuffisante de SCF, facteur de croissance indispensable aux mélanocytes ainsi qu'une production accrue d'H₂O₂ (114).

Ainsi, grâce aux différents travaux réalisés, la physiopathologie du vitiligo est de mieux en mieux comprise et dévoile sa complexité. Elle combine chez des sujets prédisposés et sous l'influence de facteurs environnementaux, des anomalies intrinsèques aux mélanocytes associées à une mauvaise réponse au stress oxydatif entraînant la libération de signaux de dangers et d'auto-antigènes activateurs du système immunitaire. L'ensemble contribue à la disparition des mélanocytes (figure 5).

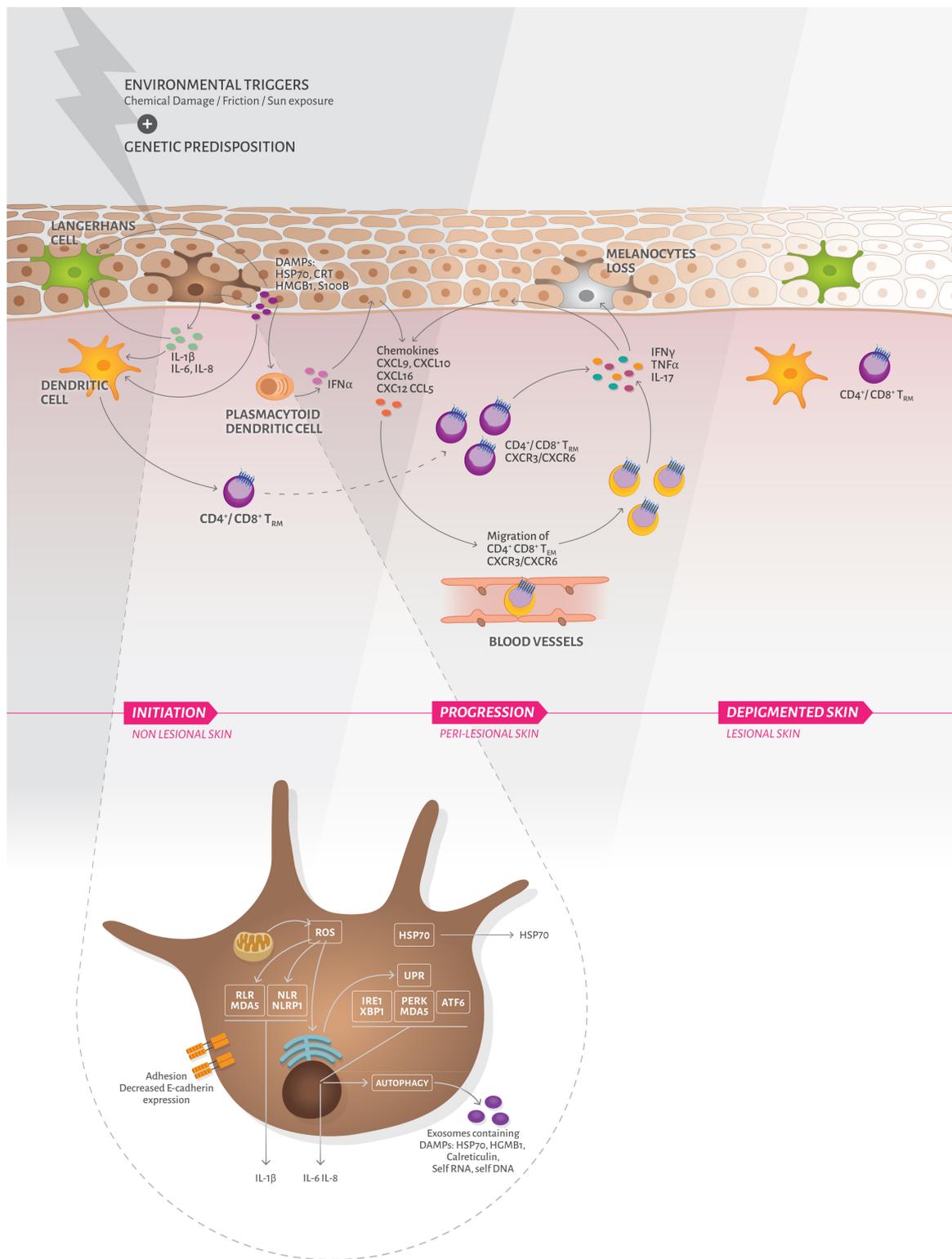


Figure 5. Immunopathogénèse du vitiligo. (Boniface et al., 2017) Certains facteurs externes favorisent le développement du vitiligo chez des sujets génétiquement prédisposés. Les mélanocytes soumis à un stress ont une production de ROS intracellulaires, une activation de l'UPR et de l'inflammasome NLRP1. Ainsi, les mélanocytes, mais également les kératinocytes stressés libèrent des DAMPs, des exosomes contenant des Ag et d'autres cytokines inflammatoires qui contribuent à l'activation du système immunitaire inné. Par la suite, une réponse adaptative cellulaire T se met en place, aidée par l'expression de chémokines qui recrutent les LT effecteurs et activent localement les T_{RM}. Ces cellules produisent des facteurs solubles dont le TNF- α et l'IFN- γ impliqués dans la perte mélanocytaire. Les mélanocytes stressés sécrètent de faibles niveaux d'IL-6 et d'IL-8, qui peuvent recruter des populations immunitaires et / ou antagoniser la fonction suppressive des cellules Treg.

III. Clinique du vitiligo non segmentaire

La disparition des mélanocytes se traduit par une dépigmentation clinique, classable selon la topographie des lésions. Nous ne parlerons là encore que du vitiligo non segmentaire.

A. Formes de vitiligo non segmentaire (NSV)

La répartition de l'atteinte du vitiligo varie d'un individu à l'autre. On distingue (figure 6)

(5) :

- **Le vitiligo généralisé** : c'est la forme la plus fréquente, intéressant des zones multiples du corps, le plus souvent symétriques. Une atteinte muqueuse est possible.
- **Le vitiligo acro-facial** : il est habituellement limité aux extrémités palmo-plantaire et à la tête où l'atteinte péri-orificielle est caractéristique. Il peut secondairement s'étendre pour réaliser un vitiligo généralisé. Cette forme est fréquente dans les cas à début adulte.
- **Le vitiligo universel** : il s'agit d'une forme rare de dépigmentation étendue à plus de 80% de la surface corporelle, impliquant parfois le système pileux en partie ou complètement. Une pigmentation discrète, périfolliculaire peut persister sur les zones photo-exposées.
- **Le vitiligo muqueux** : Il correspond à l'atteinte d'au moins 2 sites muqueux (oral et/ou génital). En effet, l'atteinte isolée d'un site muqueux avec un recul de 2 ans classe le vitiligo dans une forme indéterminée.
- **Le vitiligo mixte (NSV + SV)**, forme rare et plus fréquente chez les enfants. Elle correspond à une atteinte concomitante d'un SV et NSV. La forme segmentaire précède le plus souvent l'atteinte généralisée. L'existence d'une leucotrichie et/ou d'halo-naevi associés au SV sont des facteurs prédictifs d'une évolution vers la forme mixte (figure 7).



Figure 6. Formes de vitiligo non segmentaire : A. généralisé ; B. universel ; C. acrofacial ; D. muqueux ; E. mixte



Figure 7. Leucotrichie (à gauche) et halo-naevus (à droite)

B. Marqueurs d'activité clinique du vitiligo

L'évolution du vitiligo est imprévisible et capricieuse avec des phases de stabilité et des phases de dépigmentation. L'absence d'érythème et son caractère asymptomatique rendent l'évaluation difficile. Pourtant, établir l'activité du vitiligo est primordial pour évaluer le pronostic et sélectionner le bon traitement.

1. Phases de stabilité

La première difficulté consiste à définir la stabilité. En effet, la durée qui établit un vitiligo comme stable n'est pas consensuelle et varie selon les études entre 6 semaines et 2 ans. Le VGICC de 2012 recommande d'évaluer la stabilité sur des critères d'interrogatoire, des scores cliniques (« spreading » du VETF (Vitiligo European Task Force) ou VASI (Vitiligo Area Scoring Index)), et sur le suivi photographique de lésions spécifiques. La stabilité a été arbitrairement fixée à 12 mois (5). Les lésions d'un vitiligo stable ont typiquement des limites nettes, bien limitables, à la différence de lésions en progression dont la bordure sera volontiers floue (7). Toutefois, ce critère clinique est insuffisant pour affirmer la stabilité.

2. Phases de progression

Des marqueurs cliniques associés à un vitiligo actif ont été décrits. Il s'agit du phénomène de Koebner, des lésions trichomes, inflammatoires et de la dépigmentation en confettis. Une étude rapporte leur présence chez plus de la moitié des patients à la 1^{ère} consultation (115). Ils doivent donc être systématiquement évalués à l'examen clinique en lumière naturelle et en lumière de Wood (7).

a. Phénomène de Koebner

En 2011, une classification a été proposée par le VETF afin d'évaluer le PK dans la pratique courante (56) (figure 8) :

- **Le type 1** repose sur l'interrogatoire du patient et la notion de lésions survenues après des traumatismes ou sur d'anciennes cicatrices.
- **Le type 2** est clinique et divisé en 2 sous-groupes :
 - **Type 2A** : dépigmentations localisées sur des zones de pressions chroniques ou de frictions répétées
 - **Type 2B** : dépigmentations linéaires ou punctiformes pour lesquelles un traumatisme préalable ne fait aucun doute
- **Le type 3** est induit expérimentalement.

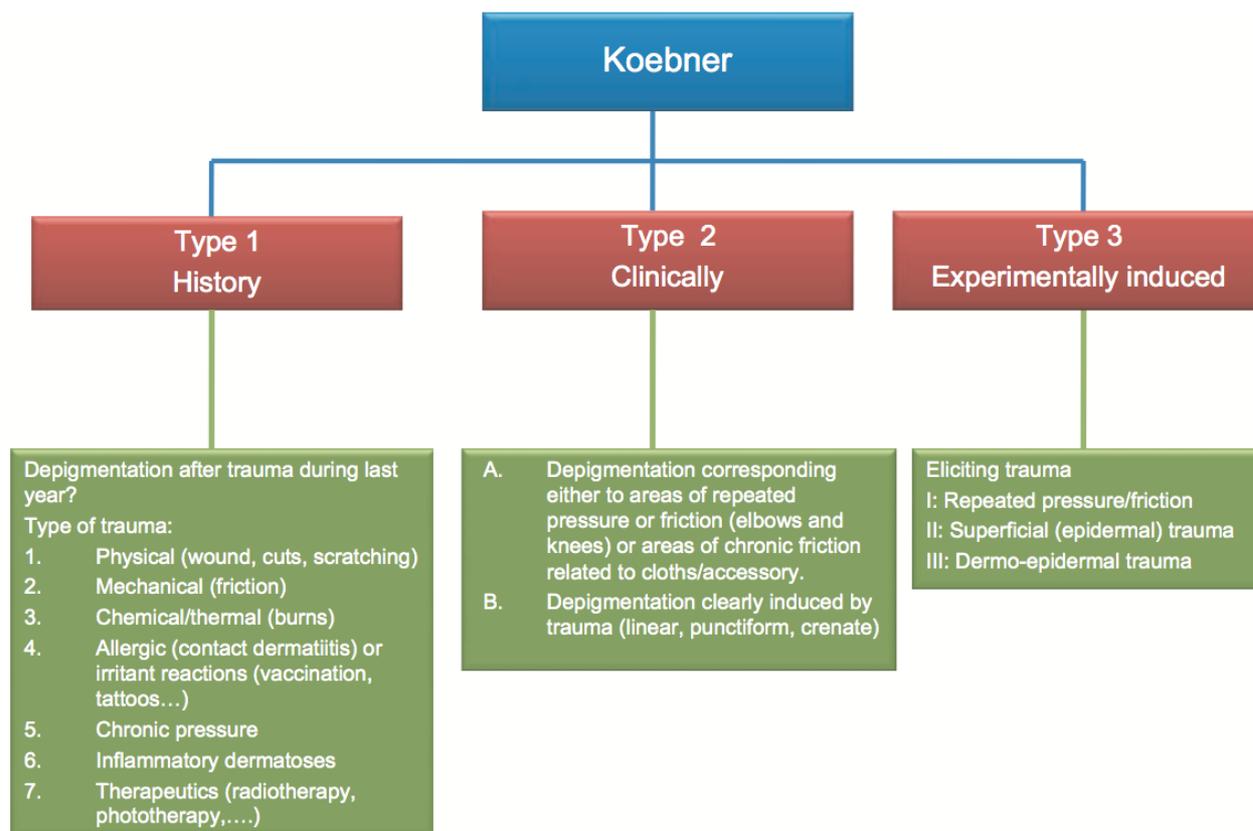


Figure 8. Classification du phénomène de Koebner (van Geel et al., 2011)

Suite à cette classification, il a été montré que les sujets avec un PK de type 1 et/ou 2 ont une surface corporelle atteinte significativement plus importante et un vitiligo plus actif dans les 12 derniers mois. Le PK est aussi associé à une moins bonne réponse thérapeutique (116).

Plus récemment un score spécifique au PK dans le vitiligo a été développé : le K-VSCOR (Koebner's phenomenon in vitiligo score) (117). Sept variables sur trente-deux se sont révélées indépendamment associées à la présence d'un PK (durée de la maladie de plus de 3 ans, atteinte du front et du cuir chevelu, paupières, poignets, zones génitales et ceinture, genoux et crêtes tibiales). Le score obtenu après pondération des zones atteintes s'étend de 0 à 56. Un score élevé est associé à un plus grand risque de progression à court terme, ce qui encourage le clinicien à optimiser l'intervention thérapeutique.

b. Lésions trichromes

Les patients ayant un vitiligo rapidement évolutif peuvent présenter une hypopigmentation périphérique intermédiaire entre la peau lésionnelle achromique et la peau normo-pigmentée. L'association de ces 3 couleurs est connue sous le nom de vitiligo trichrome (118) et est mieux appréciée par l'examen en lumière de Wood (figure 9) (7).

Figure 9. Lésions trichromes



c. Lésions inflammatoires

Si la phase inflammatoire initiale du vitiligo est le plus souvent silencieuse, elle peut dans de rares cas être cliniquement visible, réalisant un érythème +/- prurigineux en périphérie des lésions (figure 10). Elle est souvent de courte durée mais entraîne une dépigmentation rapide (3).

Figure 10. Lésions inflammatoires



d. Dépigmentation en confettis

La dépigmentation en confettis réalise des lésions ponctiformes ≤ 5 mm (figure 11). Elle peut s'observer autour de lésions existantes, mais aussi en zones de peau saine, précédant alors la dépigmentation en plaque. C'est un marqueur de sévérité car elle est associée à un score d'activité du vitiligo et un score de PK plus importants (119).



Figure 11. Dépigmentation en confettis, autour de lésions trichromes

3. Echelles d'évaluation

Plusieurs échelles ont été élaborées pour quantifier l'étendue et l'activité du vitiligo. Pourtant, aucune n'est actuellement consensuelle, d'où une grande variabilité des évaluations. Le suivi photographique des lésions cibles en lumière naturelle et UV reste une méthode simple et efficace pour apprécier l'évolution du vitiligo.

a. Score VETF

Ce questionnaire créé en 2007 par le VETF (Vitiligo European Task Force) permet l'évaluation des patients atteints de vitiligo et leur réponse aux traitements au cours du temps (6). Ce questionnaire comporte (cf annexe 1) :

- Les renseignements cliniques (date de naissance, sexe, poids/taille, ethnologie, phototype)
- Les antécédents personnels et familiaux de MAI, et de cancers cutanés
- Les renseignements concernant le vitiligo : le type, l'âge de début, l'existence d'un stress déclenchant et d'un prurit précédant les lésions, l'activité de la maladie dans les 6 derniers mois, les traitements antérieurs ou en cours ainsi que la notion de repigmentation.
- Sont recherchés à l'interrogatoire et à l'examen : les halo-naevi, une leucotrichie, et un PK. Le K-VSCOR est calculé.
- Le retentissement du vitiligo sur la qualité de vie est gradé sur une échelle visuelle de 10 cm (QoL pour *Quality of Life*).

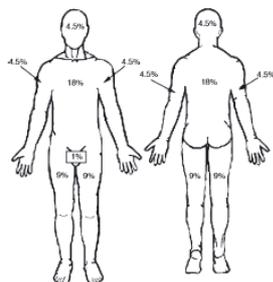
Enfin, le clinicien évalue la sévérité du vitiligo selon trois dimensions (figure 12) :

- (1) **La surface cutanée atteinte** : son évaluation dérive de la règle des 9 de Wallace, utilisée chez les patients brûlés. Elle considère qu'une main représente 1% de la surface cutanée et attribue des multiples de 9% de la surface corporelle totale à 5 territoires cutanés (tête-cou, tronc, bras, jambes et mains-pieds).
- (2) **Le « staging score »** évalue le degré de dépigmentation cutanée et folliculaire de la plus large macule de chaque région, noté de 0 (pigmentation normale) à 3 (dépigmentation complète et blanchiment des cheveux >30%) (version révisée).
- (3) **Le « spreading score »** évalue la progression de la maladie de la plus large macule de chaque région : +1 progressif, 0 stable, -1 régressif.

L'examen en lumière de Wood aidera à la cotation du staging et du spreading.

The patient's palm including digits averages 1% of BSA (body surface area)

Please draw the patches and mark the evaluated patches on figure; if any, indicate halo nevi



General recommendations

Hands and feet are included in evaluation of extent in arms and legs, but evaluated separately and globally for staging and spreading (i.e. hands and feet must be staged separately/globally as one area). Staging and Spreading can be assessed simultaneously using a Wood's lamp. Use largest patch in each territory

Recommendations to assess extent:

The patient's palm including digits averages 1% of BSA (body surface area). Please draw the patches and mark the evaluated patches on figure; if any, indicate halo nevi. If child under 5, head and neck totals 18% (9% front and back); legs 13.5 % each (6.75% front and back); no change in other parts.

Recommendation to assess stage using Wood's lamp (with magnifying lens)

Stage 0: normal pigmentation (no depigmentation in area graded)

Stage 1: incomplete pigmentation (incl. spottily depigmentation, trichome and homogeneous pigmentation. A few white hairs at this stage do not change stage grading)

Stage 2: complete depigmentation; a few white hairs at this stage do not change stage grading

Stage 3: partial hair whitening <30%;

Stage 4: complete hair whitening

Recommendation to assess spreading

First, look at patch limits using natural light. Second compare with Wood's lamp limits.

Score: 0 means similar limits

Score: 1 means progressive vitiligo (ongoing subclinical depigmentation)

Score: -1 means regressive vitiligo (ongoing subclinical repigmentation)

Area	% Area	Staging* (0-4)	Spreading* (-1 +1)
Head and neck(0-9%)			
Trunk (0-36%)			
Arms (0-18%)			
Legs (0-36%)			
Hands and feet			
Totals (0-100%)		0-20	(-5 +5)

*largest patch in each area

Figure 12. Score VETF : Evaluation de la sévérité selon l'extension, le degré de dépigmentation et la progression : règle des 9 et table de score (Taieb et al., 2007)

b. VASI

L'échelle VASI (Vitiligo Area Scoring Index) élaborée par l'équipe d'Hamzavi en 2004 (120) quantifie l'étendue du vitiligo et le pourcentage de dé/re-pigmentation. Elle dérive du score PASI utilisé dans le psoriasis. Le corps est divisé en 5 régions distinctes : mains, bras, pieds, jambes et tronc. Le visage et le cou ne font pas partie de l'évaluation globale. Pour chaque région, le VASI est calculé selon la formule suivante : $VASI = \sum (\text{régions du corps})$ (étendue de chaque région x gravité). L'étendue est calculée en unité de main (une unité de main = 1% de la surface totale) et la gravité de la dépigmentation de chaque plaque est déterminée à partir d'un atlas descriptif (valeurs possibles de 0, 10, 25, 50, 75, 90 ou 100%). Le VASI final est compris entre 0 et 100% (figure 13). Ce score a été validé dans les essais cliniques pour l'évaluation globale du vitiligo (121).

Regions	Surface (hands units)		Residual Depigmentation		
Hands	<input type="text"/>	X	<input type="text"/>	=	<input type="text"/>
Upper Extremities	<input type="text"/>	X	<input type="text"/>	=	<input type="text"/>
Trunk	<input type="text"/>	X	<input type="text"/>	=	<input type="text"/>
Lower extremities	<input type="text"/>	X	<input type="text"/>	=	<input type="text"/>
Feet	<input type="text"/>	X	<input type="text"/>	=	<input type="text"/>
					Total Score (0-100)

Vitiligo Area Scoring Index

Face and neck can be assessed separately

One hand unit, which encompasses the palm plus the volar surface of all digits, is approximately 1% of the total body surface area

The extent of residual depigmentation within each hand unit-measured patch (possible values of 0, 10%, 25%, 50%, 75%, 90%, 100% (see atlas Hamzavi et al., 2004)

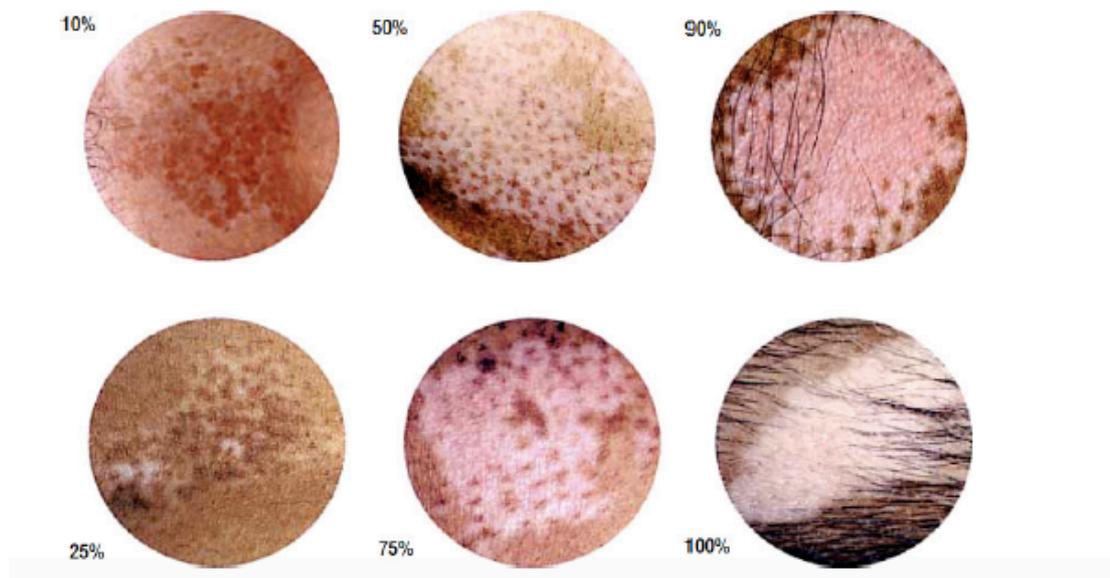


Figure 13. Echelle VASI. (Seneschal et Boniface 2016, adapté de Hamzavi et al., 2004)

c. VES (Vitiligo Extent Score)

En 2016, l'équipe de Van Geel a élaboré et validé le Score d'Extension du Vitiligo (VES) cotant l'étendue de l'atteinte. Il se veut clair, reproductible et simple à utiliser en pratique clinique et lors des études (122). Le praticien choisit successivement pour 19 zones anatomiques le pourcentage de surface atteinte avec l'aide d'une planche iconographique reflétant 6 différents degrés de dépigmentation (1%, 5%, 10%, 25%, 50%, 75%) (figure 14). Pour optimiser son calcul, un site internet a été créé : www.vitiligo-calculator.com

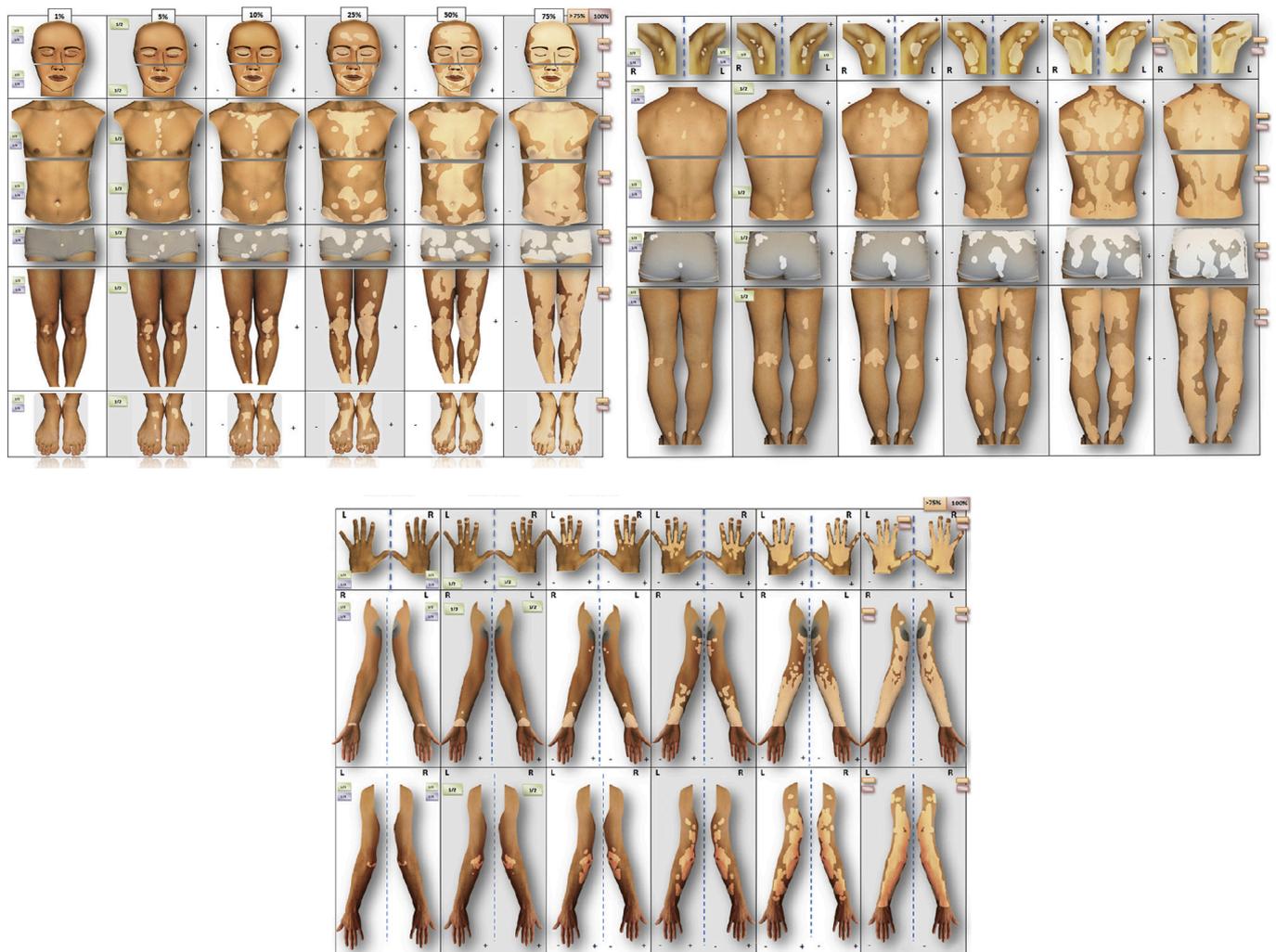


Figure 14. Vitiligo Extent Score (VES). (Van Geel et al., 2015)

d. VES-plus

Cette échelle dérivée du VES a pour objectif d'évaluer plus précisément la repigmentation péri-folliculaire et détecter précocement les changements mineurs (123). Bien que récemment validée, son intérêt reste à démontrer.

e. Autres

VIDA Score (Vitiligo Disease Activity Score):

Le score d'activité de la maladie de vitiligo est une échelle en six points de -1 à +4. Elle interroge le patient sur l'activité du vitiligo des 12 derniers mois ce qui permet d'évaluer l'efficacité des thérapeutiques réalisées et l'éventuelle repigmentation. Un score VIDA bas reflète une faible activité du vitiligo.

- +4 : Activité récente < 6 semaines
- +3 : Activité remontant de 6 semaines à 3 mois
- +2 : Activité remontant de 3 à 6 mois
- +1 : Activité remontant de 6 à 12 mois
- 0 : Stable depuis au moins 1 an
- -1 : Stable depuis au moins 1 an avec repigmentation spontanée.

Cette échelle est subjective car elle repose sur le souvenir du patient. De plus, une étude rétrospective rapporte que les résultats du score VIDA n'apparaissent pas corrélés à l'activité de la maladie mesurée par les changements du score VASI au cours du temps établi par un clinicien. Cette mauvaise évaluation du VIDA score par les patients peut s'expliquer par un biais de mémorisation (124).

D'autres échelles existent mais ne sont pas utilisées en pratique telles que la méthode de comptage de points (Point-counting method) (125) ou encore le Vitiligo Extent Tensity Index (VETI) score (126), mélange du score VETF et VASI.

Echelles d'auto-évaluations

Elles impliquent le patient à sa maladie et permettent un suivi à distance de plus grandes cohortes de patients :

- **SA-VES:** Self Assessment Vitiligo Extent Score (127). Cette version adaptée pour être complétée par le patient lui même a été récemment validée. Elle montre une bonne reproductibilité et une corrélation avec le VES réalisé par le praticien.

- **SAVASI**: Self-Assessment Vitiligo Area Scoring Index (128). Ce score établi en 2015 est limité par sa faible reproductibilité nécessitant une éducation des patients à son utilisation. De plus, le temps moyen pour le compléter est supérieur à 5 minutes.

Bien que certains signes cliniques tels que la dépigmentation en confettis, le phénomène de Koebner et la dépigmentation trichrome soient prédictifs d'activité du vitiligo, il n'existe actuellement pas de score d'activité les incorporants. Les 2 scores les plus utilisés en pratique courante sont le VETF et le VASI, qui ont prouvé leur fiabilité et leur sensibilité dans le vitiligo. Toutefois, ils apparaissent limités pour détecter les petits changements de pigmentation chez les sujets pris individuellement. Dans cette situation, une méthode d'évaluation plus précise apparaît nécessaire (121).

IV. Traitements

Des recommandations européennes existent pour la prise en charge du vitiligo (9). Malgré tout, le niveau de preuve est faible du fait de la variabilité des méthodes d'évaluation et du peu d'études contrôlées randomisées (129).

L'efficacité des traitements se base principalement sur le degré de repigmentation, mais la limite qualifiant une réponse thérapeutique de « bonne » varie selon les études. Afin d'homogénéiser les pratiques, le VGICC a défini en 2016 un traitement comme un « succès » si la repigmentation dépasse 80% et qu'au moins 80% de ce gain est maintenu pendant 6 mois (130). Plus récemment, une initiative américaine basée sur le point de vue de patients a confirmé ce taux de repigmentation d'au moins 80% d'une lésion cible pour définir une repigmentation réussie. De plus, le traitement est dit efficace si au moins 25% de repigmentation est atteint à 3 mois de traitement. Le groupe recommande de mesurer la repigmentation par l'utilisation simultanée d'une échelle subjective et objective par la mesure des pourcentages de repigmentation en quartiles (0-25%, 26-50%, 51-79%, 80-100%) (131).

L'approche thérapeutique doit être personnalisée, considérant le type de vitiligo, l'étendue, l'histoire évolutive, le potentiel de repigmentation, mais aussi la demande du patient (132). Ainsi, l'objectif peut être de stabiliser, repigmenter, dépigmenter ou camoufler le vitiligo. Différents traitements sont disponibles :

A. Traitements conventionnels

1. Traitements topiques

Les dermocorticoïdes et inhibiteurs de la calcineurine topique sont recommandés en 1^{ère} intention dans les formes localisées de vitiligo.

- **Les dermocorticoïdes forts** : ils sont utilisés pour leur effet anti-inflammatoire et immuno-modulateur à raison d'une application par jour, en dehors du visage, selon un schéma continu pendant 3 mois, ou mieux, séquentiel (15 jours par mois pendant 6 mois). Ils sont contre-indiqués sur le visage où leur utilisation prolongée entraîne atrophie et dermatoses cortico-induites. Leur efficacité est meilleure sur des lésions récentes.

- **Les inhibiteurs de la calcineurine topique (ICT) : tacrolimus et pimécrolimus**. Ces immunosuppresseurs topiques atténuent l'activité cellulaire T et la production de cytokines

pro-inflammatoires. De plus, *in vitro*, ils facilitent la migration et la mélanogénèse des mélanocytes (133,134). La seule forme actuellement commercialisée en France est le tacrolimus (PROTOPIC® pommade 0,1% ou 0,03%). Son application est recommandée 2 fois par jour sur le visage et la nuque pendant six mois chez l'adulte comme chez l'enfant. Durant cette période, une exposition solaire modérée quotidienne est recommandée (9). Des effets secondaires à type de réaction locale sont possibles (sensation de brûlure, érythème, prurit) mais habituellement transitoires. En cas d'efficacité, les applications peuvent être prolongées. En effet, le profil de tolérance des ICT sur des études de long-terme dans la dermatite atopique ou plus récemment dans le vitiligo ne rapportent pas d'atrophie cutanée, d'immunosuppression systémique ni de risque accru de cancer cutané ou extra-cutané (135,136). Un traitement de maintenance de 2 applications par semaine sur le visage est ensuite recommandé en prévention des rechutes (137).

2. Photothérapie

Outre une action immuno-modulatrice principale, elle stimule la repigmentation à partir des mélanocytes fonctionnels péri-lésionnels et induit la prolifération et différenciation des précurseurs mélanocytaires du bulge folliculaire (138). On distingue :

- **La PUVA-thérapie (psoralène-UVA thérapie)** : elle consiste en l'irradiation par des UVA après la prise orale ou l'application locale d'un traitement photosensibilisant de la famille des psoralènes. Elle est recommandée en 2^{ème} ligne du fait d'un moins bon profil de tolérance et de risques supérieurs aux UVB-TL01.

- **La photothérapie UVB à spectre étroit (TL01)** (139) : elle délivre une longueur d'onde de 311nm et est actuellement considérée comme le « gold standard » dans le vitiligo étendu (atteinte de plus de 15% de la surface corporelle) (9). En effet, les résultats obtenus avec les UVB sont meilleurs qu'avec la PUVA-thérapie (140). Deux à trois séances par semaine sont recommandées pendant 1 à 2 ans si une réponse est objectivée à 3 mois de traitement. L'étendue du vitiligo et l'activité au moment de l'initiation des UVB-TL01 n'affecte pas la probabilité de repigmentation (9). En revanche, les résultats semblent meilleurs si l'évolution du vitiligo est récente, et que les lésions siègent sur la face, le tronc ou les jambes. Les mains et les pieds sont les zones où le taux de réponse est le plus faible (141). Toutefois, environ 44% des patients récidivent sur les zones repigmentées dans l'année suivant l'arrêt de la

photothérapie (142). De plus, la faible disponibilité des cabines et leur éloignement géographique du domicile des patients compliquent parfois sa réalisation.

- **La photothérapie ciblée par lampe ou laser Excimer monochromatique à 308nm** : cette technique a l'avantage d'être réalisable par les patients au domicile, moyennant l'achat du dispositif. Elle est indiquée dans les formes localisées, en particulier de début récent, de l'adulte et de l'enfant (9). En effet, cette technique évite les effets indésirables liés à l'irradiation totale. Elle induit une repigmentation plus rapide et intense qu'avec les UVB-TL01, confirmée à l'étude histopathologique (143,144).

3. Traitements combinés

L'objectif est d'agir sur différents aspects pathogéniques afin de potentialiser la repigmentation. Cette combinaison de traitements est plus efficace que la monothérapie mais associée à plus d'effets indésirables (129,138). De ce fait, elle est recommandée en cas de lésions résistantes à la monothérapie ou dans l'objectif d'accélérer la réponse et de réduire la dose d'UV cumulative. Ainsi, les dermocorticoïdes (3 semaines par mois) pourront être associés aux 3 premiers mois de photothérapie (PUVA ; UVB-TL01 ou lampe excimer). De même, l'association ICT et photothérapie est plus efficace que chacun séparément, mais les données à long terme sur le risque carcinologique manquent et invitent à la prudence. Enfin, la repigmentation après un traitement chirurgical sera meilleure si un traitement médical ou une photothérapie est ajoutée (9,145).

4. Traitements systémiques

- **Une thérapie par corticoïdes en « mini-pulse oral (MNO) »** est recommandée dans le vitiligo rapidement progressif. Elle consiste en la prise de dexaméthasone à dose modérée (8mg chez l'enfant, 16mg chez l'adulte > 50kgs) 2 jours consécutifs par semaine (weekend-thérapie) pendant 3 à 6 mois, si possible combinée à d'autres traitements, dont la photothérapie. Le but est de stabiliser l'atteinte en limitant les effets secondaires d'une corticothérapie générale (9).
- **Le Méthotrexate (MTX)** est peu étudié dans la littérature. Son efficacité en prise orale à 10 mg/semaine a été comparée aux corticoïdes en MNO (2.5mg x 2) dans une étude randomisée chez 52 sujets au vitiligo instable et rapportée comme similaire en terme de

nouvelles lésions et de réduction du score d'activité VIDA. Les auteurs proposent que le MTX soit une alternative en cas de contre indication à la corticothérapie MNO (146). Les autres études dans le vitiligo sont limitées à de petites cohortes ou des cas isolés de patients repigmentant sous MTX introduit pour une cause autre (PR, psoriasis...).

- **D'autres traitements systémiques (cyclophosphamide et ciclosporine)** ont été évalués dans de petites cohortes. Leur faible efficacité et le risque d'effets secondaires ne permettent pas de les recommander.

5. Chirurgie

L'option chirurgicale doit être réservée à des patients sélectionnés, sans antécédent de PK, ayant un vitiligo très localisé et stable depuis au moins un an, après échec documenté d'une intervention médicale (5). Plusieurs techniques réalisées sous anesthésie locale sont possibles selon la surface et le site atteint (9,147,148) : mini-greffes, micro-pigmentation, greffes de peau totale, transplantation par bulle de succion, transplantation de mélanocytes autologues, co-cultures de kératinocytes et mélanocytes, suspension de cellules épidermiques. La photothérapie peut être associée au décours du geste.

6. Camouflage

Il est proposé à tout patient, et particulièrement utile chez les sujets à peau foncée ayant des lésions en zone visible (visage et mains). Différentes approches existent, parfois montrées lors de séances d'éducation spécifique : agents autobronzants, crèmes couvrantes teintées ou encore tatouages cosmétiques chez des sujets sélectionnés.

7. Dépigmentation

Cette technique est considérée chez les patients ayant un vitiligo très étendu ou une atteinte défigurante du visage ou des mains, réfractaire aux autres thérapies. La dépigmentation est obtenue par l'utilisation d'une crème à base de monobenzone ou par traitement laser (Ruby Q-switched 755nm), seul ou en combinaison au méthoxyphénol.

B. Mesures générales

- **La photoprotection** : elle est recommandée si l'exposition des lésions est à risque d'érythème solaire. Toutefois, il est conseillé d'associer une exposition naturelle (héliothérapie) modérée et régulière aux autres thérapeutiques médicales afin de potentialiser l'efficacité. En été, l'héliothérapie peut se substituer à la photothérapie.
- **Le phénomène de Koebner** : chez les sujets concernés, il est conseillé de limiter le stress mécanique surtout lors des poussées.
- **Le soutien psychologique** est proposé pour tout patient associé à l'évaluation du retentissement du vitiligo sur la qualité de vie grâce à des échelles de type EVA (Echelle Visuelle Analogique) ou DLQI (Dermatology Life Quality Index).

La prise en charge thérapeutique des sujets ayant un vitiligo est résumée ci-dessous (figure 15).

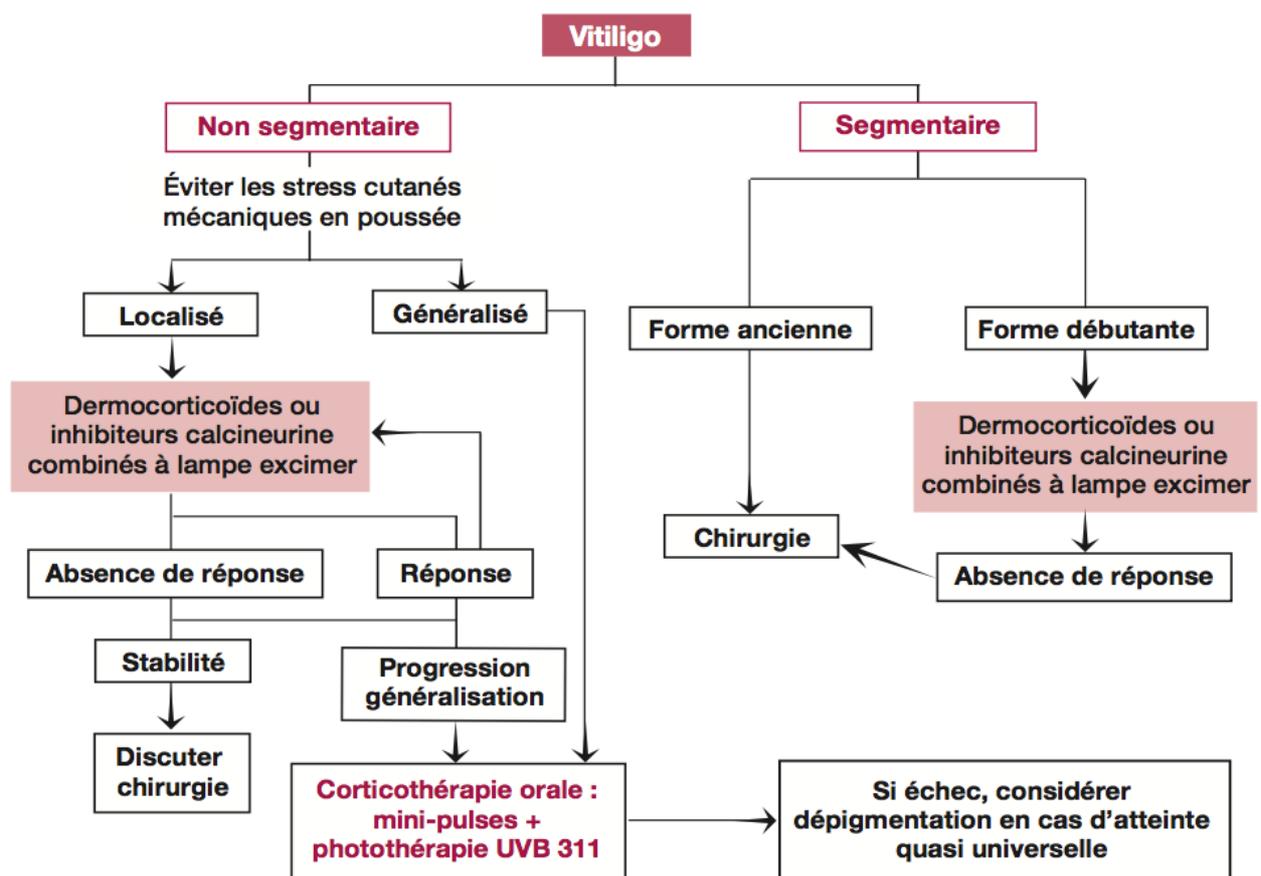


Figure 15. Algorithme de prise en charge du vitiligo (Seneschal et Taieb, 2016)

C. Nouveautés et perspectives thérapeutiques

La découverte des loci impliqués dans le vitiligo et la meilleure compréhension des mécanismes physiopathologiques permettent d'envisager de nouvelles thérapeutiques. Ainsi, il peut s'agir de réduire le stress mélanocytaire, réguler la réponse immunitaire, et/ou stimuler la régénération mélanocytaire.

1. Réduire le stress mélanocytaire

- L'utilisation d'anti-oxydants topiques ou systémiques est controversée : certaines données confirment la valeur ajoutée des anti-oxydants oraux dans le vitiligo, mais des études de confirmation sont nécessaires (149). Leur utilisation ne fait actuellement pas l'objet de recommandations spécifiques.

- L'ajout de cardiolipine *in vitro* a par ailleurs pu restaurer l'activité mitochondriale défectueuse des mélanocytes en stabilisant les composants lipidiques de la membrane basale mitochondriale (49).

2. Réguler la réponse immunitaire

- La voie de l'IFN- γ -STAT1-CXCL10 est au cœur des recherches thérapeutiques actuelles. En effet, l'activation de STAT1 passe par des tyrosines kinases de la famille des JAK, laissant envisager l'efficacité de **thérapies ciblées anti-JAK**. Ainsi, le tofacitinib et le ruxolitinib, 2 inhibiteurs de JAK 1-3 et JAK 1-2 respectivement, ont permis en prise orale une repigmentation chez 2 patients (150,151). Plus récemment, le ruxolitinib en crème à 1.5% appliqué 2 fois par jour chez 9 patients a montré une repigmentation significative, en particulier sur le visage à la semaine 20 (152), résultats confirmés et améliorés à la semaine 52 de traitement (153). L'ajout d'une photothérapie UVB semble avoir un effet synergique aux anti-JAK (154,155).

Les statines, par leur effet inhibiteur sur STAT1 ont aussi montré une efficacité chez des souris (156). Ces résultats n'ont pas été confirmés pour des vitiligos actifs chez l'homme, que la statine soit utilisée en monothérapie (157) ou en association aux UVB (158). Une posologie plus faible que dans les modèles murins peut expliquer ces échecs. Toutefois, les myalgies et troubles digestifs induits limitent l'augmentation de dose et encouragent à tester la simvastatine topique.

Ces travaux sur les anti-JAK et inhibiteurs de STAT apparaissent prometteurs car de nombreuses cytokines utilisent cette voie JAK/STAT. Ainsi, de telles thérapeutiques jouent

une action plus globale, limitant notamment la production en aval de molécules pro-inflammatoires et des signaux immunitaires nécessaires à la survie des LT (159).

Par ailleurs, **l'efficacité d'un AC anti-CXCL10** a été rapportée dans un modèle murin (102). **Des molécules inhibitrices du récepteur CXCR3** semblent aussi prometteuses (160).

Ainsi, la voie de l'IFN- γ -STAT1-CXCL10 peut être ciblée à différents niveaux (figure 16).

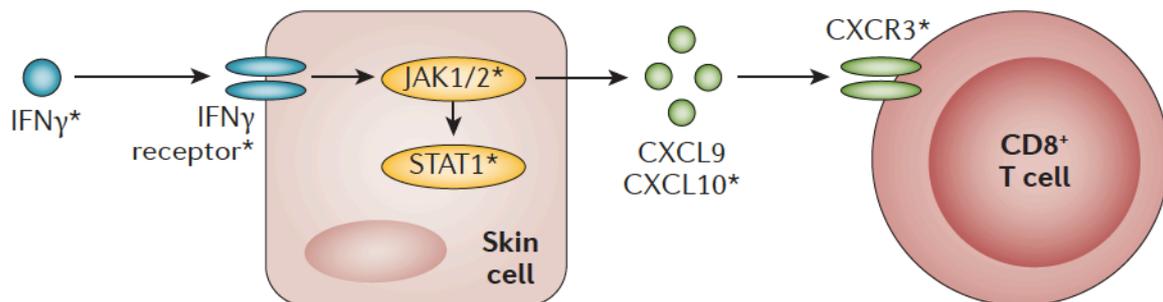


Figure 16. Voie de l'IFN- γ -STAT1-CXCL10 et thérapies ciblées : les cibles potentielles sont représentées par une astérisque (Picardo et al., 2015)

- L'HSP-70 inductible (HSP-70i), produite principalement par les mélanocytes stressés de patients avec vitiligo, accélère la dépigmentation dans les modèles murins de vitiligo. La production d'une protéine mutée d'HSP-70i chez les souris réduit la perte pigmentaire et l'inflammation cutanée, en diminuant l'activation et la réponse du système immunitaire (161). Ces résultats n'ont pas été testés chez l'homme mais ils soulignent toutefois l'intérêt d'une approche par thérapie ciblée anti-HSP-70 (figure 17).

- Plusieurs cytokines dont les taux sont augmentés dans le vitiligo peuvent aussi être la cible de thérapies, comme dans le psoriasis. Ainsi l'IL-17, l'IL-2, l'IL-23 et l'IL-33 sont des candidats potentiels (97,98,162). L'IL-1 β , produite suite à l'activation de l'inflammasome NLRP-1 pourrait faire l'objet de futurs essais avec l'**anti-IL-1** (figure 17). De même, l'intérêt d'un **anti-IL-6 récepteur**, le tocilizumab (ROACTEMRA®), se pose suite à l'observation d'une repigmentation complète de lésions vitiligoïdes faciales et péri-unguéales (mais pas génitale) obtenue chez un homme traité pendant 6 mois par tocilizumab pour une PR séronégative résistante aux thérapeutiques conventionnelles. Ce traitement apparaissait seulement suspensif car les lésions récidivaient un mois après l'arrêt thérapeutique (163). En

revanche, les **anti-TNF- α** ne sont pas recommandés car ils ne permettent au mieux que de stabiliser le vitiligo et qu'il semblerait même exister un risque d'induction ou d'aggravation des lésions (164,165).

- Une autre stratégie vise à rééquilibrer la balance immunitaire en favorisant le **recrutement dans les zones atteintes de LTreg** pour calmer l'inflammation cutanée liée aux LT effecteurs. L'expression locale des ligands CCL21 et CCL22 permettrait ce recrutement. **Bloquer l'activité des pDCs ou la production d'IFN de type I** par ces cellules pourrait être une autre approche (figure 17). De même, **cibler les LT mémoires résidents** pourrait permettre le maintien d'une réponse thérapeutique. Enfin, sur le constat que certains patients traités par immunothérapie développent un vitiligo, il est proposé de restaurer les checks points immunitaires en activant la voie du CTLA-4 et l'axe PD1-PDL1. Ces approches thérapeutiques visent à **freiner les LT effecteurs**. De ce fait, la prudence est préconisée car les effets secondaires sont mal connus, notamment le risque de mélanome lié à la baisse de l'immunosurveillance (166).

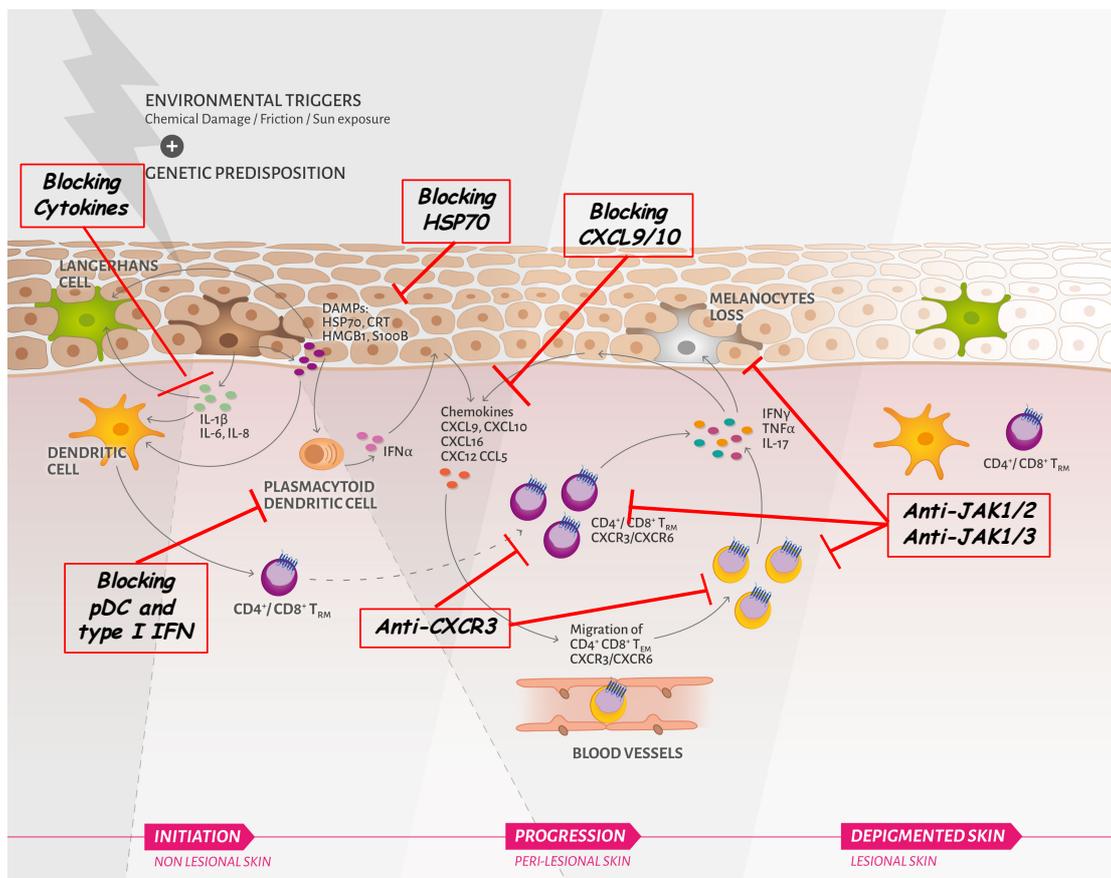


Figure 17. Nouvelles thérapeutiques ciblées dans le vitiligo. (adapté d'après Boniface et al., 2017)

3. Stimuler la régénération mélanocytaire

- Un analogue topique de la prostaglandine E2, le latanoprost, s'est révélé au moins aussi efficace que le tacrolimus pour induire la repigmentation, associés à la photothérapie (167).

- L'afamelanotide, analogue de l' α -MSH, est connu pour induire un bronzage cutané. Un essai combinant l'afamelanotide en implant sous cutané aux UVB-TL01 a montré une repigmentation plus rapide et meilleure qu'avec les UVB-TL01 seuls (168). Toutefois, ces résultats étaient obtenus sur peaux foncées (phototype IV à VI) et le bronzage en peau saine majorait le contraste avec les lésions, impactant la qualité de vie. De plus, si l'afamelanotide agit sur la pigmentation et la prolifération des mélanocytes, elle n'agit pas sur les cellules souches mélanocytaires dont la différenciation est induite par la photothérapie (169).

- La voie Wnt/ β -caténine active plus spécifiquement la différenciation des cellules souches mélanocytaires des follicules pileux en mélanoblastes sous l'action des UVB, sans créer d'hyperpigmentation. Le signal Kit induit ensuite leur migration épidermique et la différenciation en mélanocytes fonctionnels (110). Or, la voie Wnt est diminuée sous l'effet du stress oxydatif. Ainsi, la réactivation de cette voie est à l'étude et un agoniste de Wnt a pu induire une différenciation mélanocytaire *in vitro*, en peau lésionnelle (109).

Le vitiligo est donc une maladie complexe et multifactorielle. La meilleure compréhension de ses mécanismes physiopathologiques permet d'envisager de nouvelles cibles thérapeutiques dont le bénéfice reste à définir sur de futurs essais cliniques. Toutefois, l'efficacité des thérapeutiques se base actuellement sur des scores cliniques, ce qui apparaît insuffisant à l'évaluation efficace de ces futurs traitements.

RATIONNEL DU PROJET :

LES BIOMARQUEURS DANS LE VITILIGO

I. Biomarqueurs et vitiligo

Ces dernières années, de nouvelles cibles thérapeutiques ont émergé à la lumière d'une amélioration des connaissances physiopathologiques de cette maladie considérée comme une maladie inflammatoire chronique.

Cependant, un manque de marqueurs biologiques permettant d'évaluer l'efficacité de tels traitements est constaté. Aussi, compte tenu des cibles thérapeutiques potentielles et du dynamisme des prochains essais cliniques dans le vitiligo, l'identification de biomarqueurs apparaît majeure, à la fois pour évaluer précocement l'efficacité des traitements avant même l'obtention d'une réponse thérapeutique, mais aussi pour identifier en amont les patients potentiellement bons répondeurs à une thérapie.

Ainsi, plusieurs molécules sériques et cutanées ont déjà fait l'objet de recherches comme potentiels biomarqueurs d'activité :

A. Biomarqueurs sériques

1. Damage-Associated Molecular Patterns (DAMPs)

Les DAMPs ont un intérêt particulier puisqu'ils peuvent déclencher une réponse immunitaire adaptative au stade de vitiligo actif.

La protéine S100B est déjà reconnue comme biomarqueur pronostic et de suivi des mélanomes avancés. En 2017, l'équipe de Speeckaert s'y est intéressée chez 89 patients avec vitiligo. Les auteurs ont pu montrer une association significative entre les taux sériques de la protéine S100B et un vitiligo actif dans les 6 mois précédents le prélèvement. Ces taux étaient d'autant plus élevés que l'activité était forte. De plus, les taux de S100B présentaient une valeur prédictive positive de la future progression de la maladie et étaient corrélés à la surface corporelle atteinte en cas de vitiligo actif. Ainsi, les auteurs ont proposé que la protéine S100B soit un biomarqueur du vitiligo (65).

Parmi les autres DAMPs, l'intérêt de **l'HSP-70, la calreticuline ou l'HMGB1** comme biomarqueurs sériques du vitiligo n'a pas encore été étudié.

2. Cytokines

Les cytokines sont des protéines qui agissent en connexion les unes avec les autres et interagissent avec différentes cellules pouvant induire des réponses protectrices ou dommageables. Ainsi dans le vitiligo, certaines jouent un rôle précoce dans l'immunité innée tandis que d'autres interviennent plus tardivement lors de la réponse adaptative. Toutefois, de nombreuses cytokines sont produites par plusieurs types cellulaires et impliquées à la fois dans la réponse immunitaire innée et adaptative.

Le TNF- α et l'IFN- γ apparaissent être les deux cytokines majeures de la physiopathologie du vitiligo :

- Quatre études sur un total de 439 patients s'accordent à trouver des taux de **TNF- α** significativement augmentés chez les sujets au vitiligo actif, malgré des définitions variables de la stabilité / activité (170–173), tandis qu'une autre étude chez 80 patients n'a pas confirmé ce résultat (174).

- Concernant l'**IFN- γ** , Dwivedi et al ont rapporté sur une large cohorte de 517 patients une corrélation positive des taux d'IFN- γ avec l'activité du vitiligo (175). Plus tard, 3 équipes ont confirmé ce lien chez 130, 55 et 61 patients respectivement, ainsi qu'une association du ratio IFN- γ /IL-10 avec l'activité (99,173,176). En revanche, d'autres études n'ont pas établi de lien entre l'IFN- γ et l'activité du vitiligo (66,174,177).

De la même façon, les résultats concernant l'**IL-1 β** , autre cytokine pro-inflammatoire, et l'activité du vitiligo s'opposent, bien qu'il se dégage une tendance à l'augmentation de ses taux chez les patients au vitiligo actif comparativement aux patients stables (66,178,179).

L'IL-6 est produite par les cellules cutanées résidentes activées et les mélanocytes au phénotype sénescents. Pour Abdallah et al, un taux d'IL-6 >0.025 ng/ml apparaît être un marqueur sensible de l'activité du vitiligo avec une sensibilité de 96.7% et une spécificité de 80% (99). Pourtant, aucune corrélation de cette cytokine avec l'activité du vitiligo n'a été notée dans d'autres études (170,172,174) en dehors de celle de l'équipe de Tu et al chez 50 patients (179).

L'IL-17 est une cytokine produite par les cellules Th17, avec là aussi des résultats contradictoires (92). Ainsi, dans l'étude cas-contrôle d'Elela et al. incluant 84 vitiligos et 80 contrôles sains, la quantification de l'IL-17 par ELISA dans les sérums était 2 fois plus

importante dans le groupe vitiligo que dans le groupe contrôle. Les taux étaient positivement corrélés à l'activité du vitiligo et au score VASI (96). De même, l'équipe de Tembhre a rapporté des taux sériques d'IL-17 1.2 fois supérieurs dans le groupe vitiligo actif (177) et récemment a été publié un lien des taux d'IL-17 avec l'activité et l'extension du vitiligo (99). Une tendance identique a aussi été récemment notée chez 72 patients, mais elle n'était pas significative (66). A l'inverse, plusieurs autres études n'ont pas confirmé de corrélation entre l'activité du vitiligo et les taux d'IL-17, probablement par manque de puissance et/ou d'une moindre implication de cette cytokine dans le vitiligo (162,170,180). En effet, si la production d'IL-17 par les cellules T est clairement impliquée dans certaines maladies inflammatoires, son rôle comme biomarqueur dans le vitiligo et la perte des mélanocytes reste à éclaircir.

Les données s'opposent concernant l'**IL-22**, une cytokine produite à la fois par les cellules Th17 et Th22 (96,170). Cette cytokine, aussi sécrétée par d'autres cellules immunitaires, participe à la production d'IL-1 β et de chémokines par les kératinocytes (181).

Les taux de trois cytokines immunomodulatrices ont été comparés à l'activité du vitiligo :

- Le **TGF- β** , qui est une cytokine produite par les LTreg, dont des taux réduits ont été rapportés chez les patients comparés aux contrôles sains (79) et chez les sujets au vitiligo actif comparativement aux patients stables (82,177). Toutefois, une récente étude a publié des résultats inverses (66). Cette discordance peut s'expliquer par l'existence de MAI associées au vitiligo dont les patients concernés présenteraient des taux de TGF- β plus élevés que les sujets sans MAI associée (180).

- L'**IL-10**, testée dans trois études dont aucune n'a retrouvé de lien avec l'activité du vitiligo, mais 2 ont rapporté une corrélation négative avec la durée du vitiligo (172,177,180).

- Le **facteur MIF** (Macrophage migration inhibitory factor), impliqué dans l'activation des macrophages et des cellules T qui le produisent, pour lequel deux études s'opposent quant à une corrélation de ses taux sériques avec l'activité du vitiligo (182,183).

Aucun lien n'est ressorti avec l'**IL-2**, principal facteur de croissance des cellules T (170,174). En revanche, une corrélation négative des taux sériques d'IL-2 avec la durée du vitiligo a été signalée à deux reprises (170,184).

Enfin, une étude isolée a rapporté une association positive de l'activité et de l'extension du vitiligo avec les taux sériques d'**IL-33** (98). Cette cytokine est déjà connue dans d'autres

maladies cutanées inflammatoires médiées par une réponse Th1/Th17 comme le psoriasis, la PR ou les MICI.

L'expression sérique de l'**IFN- α** , dont nous avons vu précédemment l'implication physiopathologique, n'a jusqu'alors jamais été étudiée.

Au total, si le TNF- α et l'IFN- γ apparaissent être les 2 cytokines majeures de la physiopathologie du vitiligo, de multiples autres cytokines se dévoilent. Leur intérêt comme biomarqueurs d'activité du vitiligo nécessite toutefois d'être précisé du fait de l'hétérogénéité des études et de leurs résultats.

3. Chémokines

De récentes études ont identifié une élévation des taux sériques des chémokines induites par l'IFN- γ chez les patients au vitiligo actif. Ainsi, dans l'étude de Wang incluant 80 patients, les taux sériques de **CXCL9** et **CXCL10** apparaissaient plus élevés chez les patients en phase progressive qu'en phase stable (185). Cette tendance était confirmée dans l'étude de Maouia en 2017 (186). Aussi, un succès thérapeutique s'accompagnait d'une baisse significative de CXCL10, suggérant son intérêt comme indicateur de l'action thérapeutique. Toutefois, cette étude concernait des vitiligos étendus dont la surface atteinte dépassait 30% et de ce fait n'était pas représentative de l'ensemble des vitiligos (185). Récemment, l'équipe d'Abdallah a positionné la chémokine CXCL10 (>100 pg/ml) comme marqueur le plus spécifique de l'activité du vitiligo parmi l'IL-6, l'IL-17 et l'IFN- γ avec une sensibilité à 96.7% et une spécificité à 80% (99). Toutefois, ces résultats reposent sur seulement 55 patients et doivent être consolidés d'autant que d'autres études ne confirment pas l'intérêt de CXCL10 comme biomarqueur sérique d'activité (187).

En 2017, l'équipe de Rezk a rapporté une élévation de sécrétion par les mélanocytes de lésions précoces des chémokines **CXCL12** et **CCL5** (103). Dans les suites, Speeckaert et al. ont étudié les niveaux de ces chémokines dans le sérum et confirmé une corrélation positive entre les taux sériques de **CXCL12** et l'activité récente (< 3 mois). De plus, des taux élevés de CXCL12 chez des patients stables ou ayant récemment repigmentés semblaient prédictifs d'une reprise évolutive dans les mois suivants. Un seuil à 3.27 ng/ml avait une sensibilité et

une spécificité à prédire la future progression chez les patients stables depuis 6 mois de 71.4% et 68%, respectivement (188).

L'intérêt de **CXCL16** comme biomarqueur sérique n'a jamais été étudié mais une diminution de ses taux sériques après 2 mois de traitement du vitiligo et un début de repigmentation a été rapporté dans une petite cohorte de 27 patients (104).

D'autres chémokines telles que **CXCL11** et **CCL20** ont ponctuellement été identifiées comme impliquées dans la physiopathologie du vitiligo mais n'ont pas fait l'objet de recherches complémentaires (189,190). L'étude de **CXCL4** semble aussi intéressante car ses taux apparaissent corrélés à l'activité d'autres maladies inflammatoires dont les MICI (191) ainsi qu'à la sévérité de la sclérodémie systémique dont CXCL4 est prédictif de la survenue de complications (192). De plus, cette chémokine est également un ligand du récepteur CXCR3.

4. Antigènes CD solubles

Les clusters de différenciation (CD) sont des glycoprotéines de surface exprimés entre autre par les cellules immunitaires et pouvant être libérés dans la circulation à l'occasion d'une activation ou d'un renouvellement lymphocytaire. Ainsi, leurs taux sériques sont le reflet de l'état d'activité immunologique.

Le CD25 soluble (CD25s) est le récepteur soluble de l'IL-2 (IL-2Rs). Ce récepteur initialement exprimé par les cellules T activées peut être relargué dans le sérum et mesuré comme protéine soluble. Son taux est alors le reflet du nombre de récepteurs à la surface des cellules T activées. Son dosage apparaît donc être un indicateur de l'activation immunitaire. Deux premières études en 1997 et 1999 rapportaient des taux augmentés de CD25s chez les patients au vitiligo actif (193,194). Par la suite, deux autres équipes ont signalé une corrélation de taux élevés de CD25s avec un vitiligo d'évolution récente (< 1 an) sans toutefois faire de lien avec l'activité du vitiligo (184,195). En 2016, l'étude prospective de Speeckaert chez 83 patients a démontré l'association des taux sériques de CD25s avec l'activité du vitiligo. Un seuil de 2.5 ng/ml était proposé, correspondant à une sensibilité de 50% et une spécificité de 87.5% (196). A noter qu'une étude a rapporté des taux de CD25s significativement inférieurs chez les sujets avec vitiligo comparativement aux contrôles et chez les sujets au vitiligo actif versus stable (197).

Les taux de CD27 solubles étaient aussi corrélés à l'activité, comme cela a pu être démontré antérieurement dans d'autres maladies immunitaires, dont le cancer (198). Un seuil de 25 ng/ml était proposé pour une sensibilité de 43.3% et une spécificité de 88.5%.

Ainsi le risque de faux positif était d'environ 12% pour le CD25s et CD27s, suggérant leur utilité comme biomarqueurs. Aussi, le CD27s apparaissait significativement associé à une future progression (196).

5. Anticorps sériques

La corrélation du taux des **AC dirigés contre des protéines mélanocytaires** avec l'activité du vitiligo reste débattue du fait d'études divergentes, dont la majorité intéresse de faibles effectifs (<45 patients) (199–202). En revanche, deux études de plus grandes envergures, chez respectivement 79 et 127 patients, ont rapporté un lien significatif entre les taux sériques de ces AC et l'activité du vitiligo (203,204). Ces taux semblaient pouvoir prédire l'activité future de la maladie (203). Toutefois, ces AC ne sont pas présents chez l'ensemble des sujets avec vitiligo puisqu'ils n'étaient retrouvés que chez 27% des patients dans l'étude de Kemp (204), limitant l'intérêt d'un tel dosage en pratique clinique.

Une étude s'intéressant aux **AC dirigés contre les hormones thyroïdiennes (T3 et T4)** a identifié leur forte présence dans le groupe vitiligo (94.5%) comparativement au groupe contrôle (1%). Les AC dirigés contre l'hormone T4 étaient significativement associés à l'activité du vitiligo (205).

B. Biomarqueurs cutanés

Parallèlement aux études sériques, la recherche de biomarqueurs cutanés est une approche complémentaire plus spécifique. Toutefois, les modalités de prélèvements, l'analyse et la quantification des biomarqueurs sont sources de variabilité. Ont été étudiés :

1. DAMPs

Parmi les DAMPs, seule l'expression cutanée de **HSP-70** a été étudiée. Une corrélation positive de l'expression de son ARN messager avec l'activité du vitiligo a été rapportée, que la biopsie soit faite en zone lésionnelle ou non (206). Ces résultats sont en accord avec la surexpression en immunohistochimie d'HSP-70 retrouvée dans l'épiderme de patients progressifs comparativement à des sujets stables ou contrôles (207).

2. Cytokines

Une augmentation de l'expression cutanée de plusieurs cytokines pro-inflammatoires a été notée en bordure de lésions progressives comparativement aux lésions stables, à savoir le **TNF- α** (208), l'**IFN- γ** (186) ou encore l'**IL-1 β** (209). Dans cette dernière étude, l'expression cutanée de **NLRP-1** apparaissait également corrélée à l'activité.

Aussi, une corrélation positive entre l'expression d'**IL-22** et l'extension du vitiligo a été décrite (96). En revanche, les études sont en désaccord sur la corrélation des niveaux d'expression lésionnels et péri-lésionnels de l'**IL-17** avec l'activité du vitiligo (66,77,96), tandis qu'un lien avec l'étendue et la durée du vitiligo a été rapporté (162).

Parmi les cytokines immunomodulatrices, les résultats quant à la corrélation des niveaux d'expression du **TGF- β** avec l'activité du vitiligo sont opposés (66,210). Aucun lien ne ressort avec l'**IL-10** (210), tandis que la cytokine **MIF** semble positivement corrélée (182).

Jusqu'alors, aucune étude ne s'est intéressée aux niveaux d'expression cutanée des cytokines **IL-6**, **IL-8** et **IFN- α** avec l'activité du vitiligo.

3. Chémokines

Dans un modèle murin, l'étude de l'expression cutanée des chémokines **CXCL9** et **CXCL10** a souligné leur corrélation avec l'activité du vitiligo : **CXCL9** était exprimée plus précocement dans des lésions actives et apparaissait être un marqueur plus spécifique d'activité. A l'inverse, l'expression de **CXCL10** était liée à la sévérité (211). Cette forte expression cutanée de **CXCL9** et de son récepteur **CXCR3** a aussi été démontrée chez l'homme dans les vitiligos très progressifs (67).

De façon intéressante, Maouia et al. ont montré que **l'IFN- γ** et **CXCL10** étaient augmentés en peau non lésionnelle de patients avec vitiligo actif comparativement aux patients stables et constitueraient des marqueurs précoces d'une future dépigmentation (186).

L'expression de **CXCL9** et **CXCL10** a aussi été étudiée sur des bulles de succion. Cette technique micro-invasive consiste à analyser le liquide de bulles induites par un appareil à pression négative et est présentée comme une alternative plus précise aux immunomarquages réalisés sur biopsies cutanées, souvent difficiles à quantifier. Dans l'étude de Strassner, la concentration de **CXCL9** et le nombre de LT CD8+ étaient plus importants en bordure de lésions actives. **CXCL9** apparaissait être un excellent biomarqueur de l'activité avec une sensibilité de 100% et une spécificité de 93%. En revanche, la concentration de **CXCL10** était ici non prédictive de l'activité (212), tandis qu'elle l'était dans l'étude récente de Yang (213). A noter toutefois que cette technique est plus longue à réaliser qu'une biopsie cutanée, soulevant la question de sa faisabilité en pratique clinique, et qu'une inflammation induite n'a pas été exclue.

Deux autres chémokines, **CXCL12** et **CCL5** apparaissent produites de façon accrue par les mélanocytes de lésions précoces (<2 mois), tandis que leurs expressions chez les sujets témoins et dans les lésions anciennes (>6 mois) ne sont pas modifiées (103).

Récemment a été confirmée une augmentation significative des niveaux de l'expression épidermique des chémokines **CXCL10** et **CCL5** chez l'homme, dont les kératinocytes stimulés par le TNF- α et l'IFN- γ apparaissent être la source primaire (99,213).

4. Antigènes CD solubles

Les taux de CD25s issus de bulles de succion prélevées en bordure de lésions progressives sont significativement plus élevés qu'en bordure de lésions stables (194), confortant les résultats retrouvés au niveau sérique.

5. Infiltrat par des cellules de l'immunité adaptative

La production cutanée de ces différentes cytokines et chémokines se traduit par l'infiltration cutanée de cellules immunitaires comme en témoigne la forte expression de **LT CD4+**, **CD8+**, **CXCR3+**, **LTreg FoxP3+** et de **pDCs** en peau péri-lésionnelle de vitiligos actifs comparativement aux vitiligos stables (4,67,84).

Au total, de multiples biomarqueurs cutanés et sériques ont été testés, souvent dans de petites cohortes et avec des méthodologies variables. Si ces recherches ont souligné certaines tendances, elles nécessitent d'être confirmées, car jusqu'à maintenant, aucun test biologique n'a été validé pour déterminer l'activité du vitiligo.

II. Contexte du projet et objectifs de l'étude

A. Intérêt d'identifier des biomarqueurs

De multiples acteurs biologiques interviennent ainsi à des stades et à des degrés variables dans la physiopathologie de cette maladie inflammatoire chronique. Ces découvertes permettent d'envisager des thérapies ciblées au cours du vitiligo afin d'en améliorer la prise en charge future.

Ainsi, l'identification de biomarqueurs associés à l'activité du vitiligo apparaît majeure pour identifier les patients avec une maladie stable ou progressive et suivre biologiquement cette activité avant et après traitement. De ce fait, ces biomarqueurs pourraient être des indicateurs précoces de réponse thérapeutique, mais également pourraient permettre l'identification en amont des patients bons répondeurs à une thérapie. De plus, du fait de la survenue imprévisible des poussées, le monitoring de la maladie grâce à ces biomarqueurs aiderait le clinicien à l'identification précoce des rechutes.

Toutefois, les résultats des travaux déjà réalisés apparaissent souvent contradictoires pour une même protéine étudiée. Le faible nombre d'études et des méthodologies différentes (tailles d'échantillons et caractéristiques des patients, définitions de l'activité de la maladie, mesures de laboratoire) peuvent expliquer cette variabilité. De plus, la plupart de ces travaux se sont intéressés à un seul ou un faible nombre de biomarqueurs. Or, le vitiligo est une maladie cliniquement hétérogène et de physiopathologie complexe comme peuvent l'être d'autres dermatoses inflammatoires chroniques, comme la dermatite atopique, pour laquelle une combinaison de biomarqueurs a montré une meilleure corrélation avec la sévérité de la maladie que des biomarqueurs évalués individuellement (214,215).

B. Objectifs de notre étude

Ainsi, notre étude a pour principal objectif d'évaluer simultanément un panel de marqueurs sériques dans le vitiligo non segmentaire. Tout d'abord, nous avons recherché les biomarqueurs dérégulés chez les patients en comparaison aux sujets sains. Ensuite, nous avons voulu identifier les biomarqueurs associés à l'activité du vitiligo (patients stables versus progressifs). Enfin, des corrélations entre certains biomarqueurs ont été réalisées afin de mieux définir leur implication sérique ainsi que des corrélations avec certains paramètres cliniques (surface cutanée atteinte, durée du vitiligo).

MATERIEL ET METHODES

I. Description de l'étude

A. Format de l'étude

Nous avons conduit une étude rétrospective observationnelle mono-centrique dans le service de dermatologie de l'hôpital St André à Bordeaux d'avril 2013 à avril 2018. Un consentement éclairé et écrit a été obtenu de tous les patients inclus et l'étude a été approuvée par le comité éthique local de l'université de Bordeaux.

B. Données relatives aux patients

1. Critères d'inclusion et d'exclusion

Tous les patients consultant pour un vitiligo entre avril 2013 et avril 2018 ont été identifiés à partir de données informatiques hospitalières. Parmi cette cohorte de 957 patients, nous avons sélectionné 41 adultes âgés de 18 ans ou plus qui avaient consenti à un prélèvement sanguin pour la recherche et présentant un vitiligo non segmentaire (vitiligo) stable ou très progressif, non traité depuis au moins 3 mois. Ces patients ont été divisés en 2 groupes selon l'activité du vitiligo : vitiligo stable si le « spreading » score était de 0 ou +1 selon la définition du VETF (6), et vitiligo progressif si le « spreading » score était $\geq +3$.

Les critères d'exclusion incluait un vitiligo segmentaire ou indéterminé, un vitiligo régressif selon le « spreading score », un vitiligo traité dans les moins de 3 mois et les dépigmentations survenant chez les patients traités par immunothérapie pour un cancer avancé.

Des échantillons contrôles ont été obtenus de 19 volontaires sains ne présentant aucune maladie auto-immune ou inflammatoire. Ces témoins étaient appareillés avec les patients sur le sexe et l'âge.

2. Informations collectées

Pour chaque patient, un questionnaire vitiligo (annexe 1) a été complété par le clinicien selon les critères du VETF (6): Les données démographiques et cliniques ont été étudiées : l'âge, le sexe, le phototype et l'origine ethnique du patient étaient recueillis ainsi que l'âge d'apparition et le type de vitiligo. Un stress émotionnel déclencheur était recherché ainsi que la présence d'un prurit ou d'une sensation de brûlure sur les lésions de vitiligo, un phénomène de Koebner, une leucotrichie et une atteinte des organes génitaux. Le patient était interrogé sur l'activité de la maladie au cours des 6 derniers mois (progressive, régressive ou

stable), l'existence d'une repigmentation antérieure (si oui, spontanée, sous traitement ou après exposition solaire), le type, la durée et l'efficacité des traitements antérieurs (utile / non utile), le(s) traitement(s) actuel(s) et la date de début. Les comorbidités étaient notées : maladie thyroïdienne (si oui, présence d'auto-anticorps thyroïdiens ou non), antécédents personnels et / ou familiaux de MAI ou auto-inflammatoires (maladie thyroïdienne, dermatite atopique, PR, spondylarthrite ankylosante, psoriasis, DT1, pelade, MICI, anémie de Biermer, LES, sclérose en plaques, canitie précoce (> 50% de cheveux blancs avant l'âge de 40 ans), halo-naevi), les antécédents personnels de cancer cutanés, les autres maladies et leurs traitements. L'histoire familiale incluait les parents du premier et du deuxième degré. Enfin, l'impact du vitiligo sur la qualité de vie était évalué par les échelles de qualité de vie Dermatology Life Quality Index (DLQI) et Quality of Life (QoL). Les patients répondaient à la question « comment le vitiligo affecte-t-il votre vie quotidienne ? ».

3. Evaluation clinique

L'évaluation clinique selon le VETF (6) évaluait pour cinq régions du corps (tête et cou, tronc, membres supérieurs, membres inférieurs, mains et pieds) : (i) **l'extension du vitiligo** (pourcentage de la surface corporelle atteinte, de 0 à 100%) en utilisant la règle des 9; (ii) **le « staging »** ou grade de pigmentation cutanée et folliculaire, allant de 0 (pigmentation normale) à 3 (dépigmentation complète avec blanchiment des cheveux > 30%); et (iii) **le « spreading »** ou évolutivité du vitiligo (+1 progressif, 0 stable, -1 vitiligo régressif). Selon les recommandations, le « staging » et le « spreading » étaient évalués en lumière naturelle et lumière de Wood à partir de la plus grande macule de chaque région corporelle, sauf les mains et les pieds évalués séparément (7,119). Leur score total respectif allait de 0 à 15 et de -5 à +5. L'existence de halo-naevi (actuels ou antérieurs), leur nombre et leur localisation étaient notés. Le phénomène de Koebner était évalué selon les recommandations du VETF de 2011 (56) : Koebner de type 1 : dépigmentation survenue après un traumatisme au cours de la dernière année; Koebner de type 2A : dépigmentation correspondant à des zones de pressions ou de frictions répétées, ou des zones de frottements chroniques liés aux vêtements / accessoires; Koebner de type 2B : dépigmentation clairement induite par un traumatisme (linéaire, ponctué ou crénelé). Le K-VSCOR était calculé (compris entre 0 et 56) (117). Enfin, des photographies cliniques étaient prises à chaque consultation pour aider l'évaluation des cliniciens.

4. Evaluation sérologique

En l'absence d'antécédents biologiques était réalisé un bilan thyroïdien comprenant TSH, AC anti-TGO et anti-TPO. Les limites de chaque laboratoire étaient utilisées pour l'interprétation du dosage. L'état thyroïdien était considéré comme « positif » en cas d'antécédents personnels de maladie thyroïdienne et / ou de présence d'auto-anticorps anti-thyroïdiens TPO ou TGO.

Un prélèvement sanguin sur tube sec adressé au laboratoire de recherche était effectué pour chaque participant et répété aux consultations de suivi. Ces échantillons de sang ont été centrifugés et les sérums congelés à -80° C.

C. Définition de l'activité et de l'extension du vitiligo

L'activité du vitiligo a été classée dans l'une des deux catégories suivantes :

- (i) Vitiligo actif si le « spreading » score était $\geq +3$
- (ii) Vitiligo stable si le « spreading » score était de 0 ou +1

Les patients ayant un 'spreading' score ≤ -1 et $+2$ ont été exclus des analyses.

L'extension du vitiligo correspondant au pourcentage de surface corporelle atteinte était notée de 0 à 100% selon le VETF.

D. Choix des biomarqueurs

Nous avons choisi d'étudier 38 facteurs solubles, déterminés à partir de la littérature et de la physiopathologie du vitiligo. Pour chacun des patients inclus dans cette étude, ces analytes ont été dosés à partir des échantillons de sérum obtenus au décours des consultations.

II. Technique ELISA

L'immuno-absorption enzymatique (ELISA pour Enzyme-linked immunosorbent assay) a été utilisée afin de déterminer la concentration sérique des différents analytes dans chaque échantillon de patient.

L'ELISA est une technique simple, facile d'emploi et peu coûteuse qui a prouvée son utilité pour mesurer la concentration de facteurs solubles dans le sérum. Il en existe différentes variantes qui permettent de quantifier un ou plusieurs Ag simultanément. Cette technique est toutefois limitée par la disponibilité en AC spécifiques.

De façon alternative, une courbe standard fondée sur des concentrations connues d'Ag est préparée et utilisée pour déterminer la concentration d'un échantillon.

Pour ces dosages, nous avons utilisé deux variantes d'ELISA, dans lesquelles un analyte soluble est capturé entre deux AC.

- Le premier AC, dit de fixation, permet la capture de l'antigène ;
- Le deuxième AC, dit de révélation, est couplé à la biotine.

Une streptavidine couplée à une enzyme ou à un fluorochrome en fonction de la méthodologie utilisée se lie à la biotine du deuxième AC. La quantité d'enzyme (qui catalyse une réaction colorée) ou de fluorochrome (mesure de la fluorescence) fixée est alors proportionnelle à la protéine d'intérêt dans l'échantillon. L'intensité de coloration ou de fluorescence est respectivement mesurée par spectrophotométrie ou cytométrie en flux et comparée à une courbe étalon établie en parallèle.

A. ELISA classique

1. Principes de l'ELISA sandwich colorimétrique

6 étapes se succèdent (figure 18) :

1. L'AC primaire (de capture) spécifique de l'Ag à mesurer (dilué en tampon PBS) est fixé dans des plaques 96 puits traitées pour être affines aux protéines (Maxisorp®, Thermofisher Scientific). C'est l'étape de « coating » de l'AC.

2. Après lavage, l'échantillon sérique contenant des taux inconnus de l'Ag à doser est ajouté, permettant la réaction avec l'AC immobilisé. Une gamme étalon préparée en PBS 1% BSA selon les recommandations du fournisseur est réalisée en parallèle.
3. Après lavage des puits, un AC secondaire (de détection) biotinylé est ajouté et se lie à l'Ag capturé au niveau d'un épitope différent.
4. Après lavage, la Streptavidine conjuguée à l'enzyme HRP (Peroxydase de Raifort) est ajoutée. La Streptavidine se lie à la biotine du fait d'une forte affinité naturelle.
5. Après un nouveau lavage est ajoutée une solution de révélation contenant le substrat pour l'enzyme HRP, l' H_2O_2 . Le produit de la réaction obtenue est colorimétrique. La réaction est arrêtée par ajout d' H_2SO_4 .
6. L'intensité de cette coloration est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre (MultiSkan EX®, Thermo Scientific) à une longueur d'onde de lecture de 450 nm et de correction de 550 nm. La densité optique ainsi obtenue permet de déterminer la concentration de l'Ag à partir d'une gamme étalon.

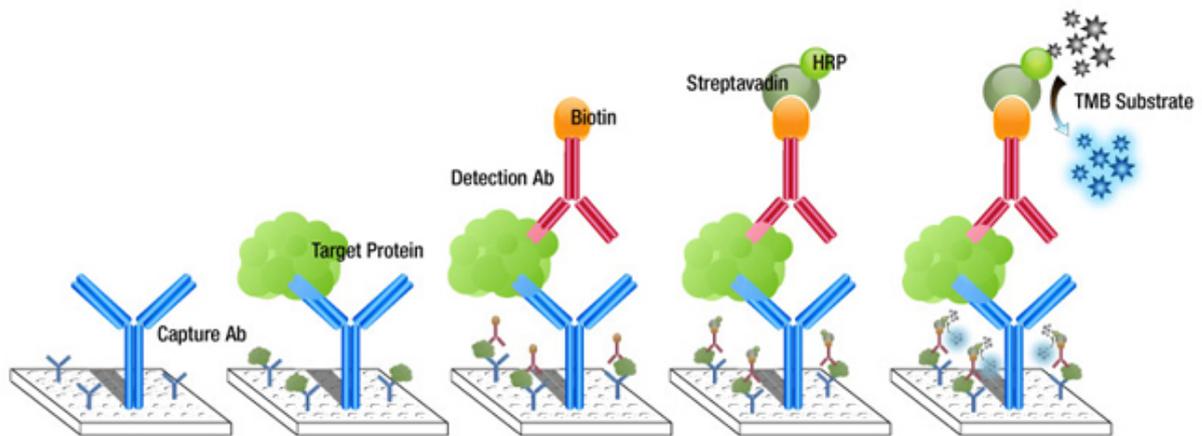


Figure 18. ELISA sandwich colorimétrique. (d'après le site Certara.com)

2. Analytes étudiés

Cinq analytes ont été individuellement mesurés par cette méthode : HSP-70, la protéine S100B, CD25s, CD27s et CXCL4 (duoset, R&D systems).

Les caractéristiques de laboratoire pour chaque analyte sont détaillées dans le tableau 1.

	Anticorps de capture	Anticorps de détection	Amplitude de gamme étalon	Streptavidine-HRP
HSP-70	4 µg/ml	150 ng/ml	125-4000 pg/ml	1/40 ^{ème}
S100B	4 µg/ml	100 ng/ml	46.9- 3000 pg/ml	1/40 ^{ème}
CD25s	2 µg/ml	100 ng/ml	62.6-2000 pg/ml	1/200 ^{ème}
CD27s	0.8 µg/ml	75 ng/ml	125-1000 pg/ml	1/40 ^{ème}
CXCL4	2 µg/mL	200 ng/ml	15.6-1000 pg/ml	1/200 ^{ème}

Tableau 1. Paramètres de laboratoire pour chaque analyte étudié : concentration finale des anticorps de capture et des anticorps de détection, seuils de détection de la gamme étalon et dilution de la Streptavidine - Peroxydase de Raifort (SA-HRP)

B. ELISA Multiplex

La concentration sérique des autres analytes a été dosée par ELISA Multiplex grâce à l'immunodosage à base de billes de la technologie LEGENDPlex™ de Biolegend.

1. Principes de l'immunodosage à base de billes

L'immunodosage à base de billes est une variante d'ELISA sandwich permettant de quantifier simultanément plusieurs Ag solubles (jusqu'à 13 pour la technologie LEGENDPlex™). Des billes de tailles et d'intensités de fluorescence différentes permettent cette détection simultanée dans des échantillons biologiques en utilisant un cytomètre en flux. Le volume d'échantillon nécessaire et le risque de liaisons non spécifiques sont moindres qu'avec la technique ELISA classique du fait d'une surface d'immobilisation des AC plus petite.

La procédure se déroule en 4 étapes principales (figure 19) :

1. Les populations de billes utilisées sont de deux tailles et ont différentes intensités de fluorescence internes (le fluorochrome est l'allophycocyanine (APC)), ce qui permet de les distinguer clairement les unes des autres. Chaque ensemble de billes est conjugué à sa surface avec des AC primaires spécifiques d'un Ag d'intérêt. L'association bille-AC primaires constitue une bille de capture pour l'analyte d'intérêt qui se liera à l'AC primaire.

Un panel sélectionné de billes de capture est d'abord incubé avec un échantillon sérique contenant des analytes cibles. Chaque analyte se lie alors à sa bille de capture spécifique. Une gamme étalon préparée selon les recommandations du fournisseur est réalisée en parallèle.

- Après lavage, des AC de détection biotinylés sont ajoutés. Chacun se lie à son analyte spécifique, formant ainsi des sandwichs de capture : AC primaire couplé aux billes - analyte - AC de détection biotinylé.

La streptavidine-phycoérythrine (SA-PE) est ensuite ajoutée. Elle se lie aux AC de détection biotinylés. La PE, qui est un fluorochrome, fournit un signal fluorescent dont l'intensité est proportionnelle à la quantité d'analyte lié dans l'échantillon.

- Enfin, les billes défilent dans un cytomètre de flux permettant de collecter les données concernant la taille et l'intensité de fluorescence des signaux PE et APC pour chaque population de billes.

- Les données sont analysées grâce au logiciel fourni par LEGENDplex™ : dans un premier temps, les 2 tailles de billes sont distinguées sur un dot-plot par l'étude de 2 paramètres (FSC pour Forward Scatter et SSC pour Side Scatter) évaluant respectivement la taille et la granularité. Puis, pour chaque taille de billes, l'intensité de fluorescence des signaux APC et PE est quantifiée et permet de distinguer la concentration des différents analytes d'intérêt sur la base d'une courbe standard connue.

PRINCIPLE OF THE ASSAY

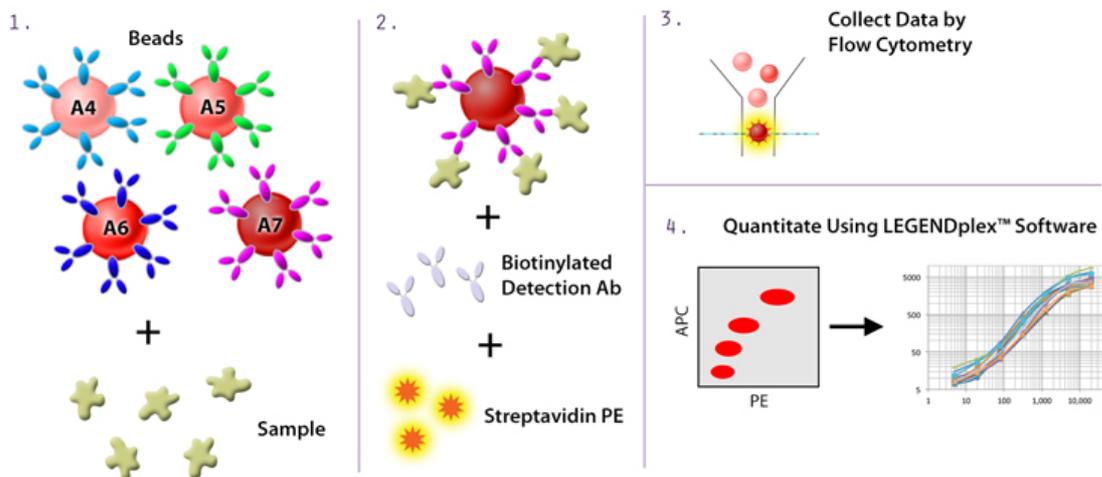


Figure 19. Immunodosage à base de billes (d'après le site BioLegend.com)

2. Analytes étudiés

* Deux panels prédéfinis ont permis d'étudier simultanément 13 analytes chacun (tableau 2) :

- Le panel « Human Inflammation » comprenant CCL2, IFN- α_2 , IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-17, IL-18, IL-23, IL-33 et TNF α .
- Le panel « Human Proinflammatory Chemokine » comprenant CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL11, CCL17, CCL20, CXCL1, CXCL5, CXCL8 (=IL-8), CXCL9, CXCL10 et CXCL11.

* Un kit à façon a été réalisé (tableau 3) :

- Un 8-plex avec CXCL12, IL-4, IL-13, IL-22, IL-15, sFASL, granzyme B et perforine.

* Un LegendPlex™ pour le TGF- β a permis sa mesure isolée (tableau 4).

	Amplitude de gamme étalon		Amplitude de gamme étalon
CCL2	4.9 - 10 000 pg/ml	CCL2	2.4 - 10 000 pg/ml
IFN- α_2	10.8 - 10 000 pg/ml	CCL3	1.9 - 10 000 pg/ml
IFN- γ	17.4 - 10 0000 pg/ml	CCL4	2.2 - 10 000 pg/ml
IL-1 β	25.6 - 10 000 pg/ml	CCL5	2.4 - 5008 pg/ml
IL-6	9.3 - 10 000 pg/ml	CCL11	2.4 - 10 000 pg/ml
IL-8	10.1 - 10 000 pg/ml	CCL17	2.4 - 10 000 pg/ml
IL-10	9.6 - 10 000 pg/ml	CCL20	1.7 - 10 000 pg/ml
IL-12	6.6 - 10 000 pg/ml	CXCL1	3.8 - 10 000 pg/ml
IL-17	16.2 - 10 000 pg/ml	CXCL5	2.4 - 4995 pg/ml
IL-18	4.9 - 10 000 pg/ml	CXCL8	1.3 - 10 000 pg/ml
IL-23	40.8 - 10 000 pg/ml	CXCL9	2.4 - 10 000 pg/ml
IL-33	61.4 - 50 000 pg/ml	CXCL10	2.4 - 10 000 pg/ml
TNF α	15.3 - 10 000 pg/ml	CXCL11	2.0 - 10 000 pg/ml

Tableau 2. Seuils de détection de la gamme étalon pour les analytes du panel « Human Inflammation » et « Human Proinflammatory Chemokine » de LegendPlex™

	Amplitude de gamme étalon
CXCL12	61 - 250 000 pg/ml
IL-4	1.6 - 10 000 pg/ml
IL-13	2.3 - 10 000 pg/ml
IL-22	2.3 - 10 000 pg/ml
IL-15	13.4 - 50 000 pg/ml
sFASL	3.1 - 10 000 pg/ml
Granzyme B	21.8 - 50 000 pg/ml
Perforine	2.4 - 10 000 pg/ml

Tableau 3. Seuils de détection de la gamme étalon pour les analytes du 8-plex de LegendPlex™

	Amplitude de gamme étalon
TGF-β	2.4 - 10 000 pg/ml

Tableau 4. Seuils de détection de la gamme étalon pour le TGF-β de LegendPlex™

A noter que les dosages sériques de HSP-70, S100B, CD25s, CD27s et CXCL4 ont pu être réalisés sur la cohorte complète de 60 sujets. En revanche, les dosages des autres analytes ont été réalisés chez 50 sujets : 35 patients (17 patients au vitiligo stable et 18 au vitiligo progressif) et 15 contrôles sains.

III. Analyse statistique

Les analyses ont été effectuées en utilisant le logiciel GraphPad Software (version 7.0 pour Macintosh). Les variables continues sont présentées en déviations moyennes et standard et les variables catégorielles sous forme de nombres et de pourcentages.

Afin d'identifier les biomarqueurs associés au vitiligo et à l'activité du vitiligo, les comparaisons entre les groupes ont été effectuées avec le test U non paramétrique de Mann-Whitney. Tous les prédicteurs potentiels de la progression du vitiligo ont d'abord été évalués individuellement.

Le test de corrélation de Spearman a été utilisé pour évaluer la force de l'association entre les variables. Les résultats font apparaître le coefficient de corrélation (r).

Les valeurs de p inférieures à 0.05 ont été considérées comme statistiquement significatives.

RESULTATS

I. Caractéristiques cliniques et démographiques

A. Patients

Les caractéristiques des 41 patients inclus rétrospectivement sont données dans le tableau 5 : 21 femmes et 20 hommes, d'âge moyen (\pm SD) 42.71 (\pm 16.06) ans (tranche d'âge 18-73 ans). Dix-huit (43.9%) avaient un vitiligo stable (« spreading » score moyen de +0.33) et 23 (56.1%) avaient un vitiligo très progressif (« spreading » score moyen de +4.35). Les caractéristiques générales (âge à l'inclusion, sexe, durée d'évolution du vitiligo, antécédents personnels de maladies inflammatoires et/ou auto-immunes, d'halo-naevus et statut thyroïdien) étaient similaires entre les 2 groupes. L'âge moyen au début du vitiligo était de 31.76 (\pm 16.81) ans (tranche d'âge 6-66 ans), ce qui correspondait à une durée d'évolution moyenne du vitiligo de 10.98 (\pm 8.92) ans au moment de l'inclusion. Quatre types de vitiligo non segmentaire étaient représentés incluant le vitiligo acro-facial pour 10 (24.39%) patients, le vitiligo généralisé pour 26 (63.41%) patients, le vitiligo universel pour 1 (2.44%) patient et le vitiligo mixte pour 4 (9.76%) patients. La surface corporelle moyenne atteinte (BSA pour Body Surface Area) était de 13.73% (\pm 12.73) et apparaissait significativement plus importante dans le groupe vitiligo progressif que dans le groupe stable ($p=0.012$). Il existait un PK chez 32 (78.05%) patients et le K-VSCOR moyen était de 33.53 (\pm 11.9), avec une tendance non significative à des résultats plus élevés pour ces 2 paramètres dans le groupe progressif comparé au groupe stable ($p=0.15$ et $p=0.075$, respectivement). Aucun des patients de cette étude n'avait reçu de traitement topique ou systémique dans les 3 mois précédents l'inclusion.

B. Sujets témoins

Dix-neuf sujets sains, 8 hommes et 11 femmes, d'âge moyen (\pm SD) 38.95 (\pm 12.0) ans (tranche d'âge 23-58 ans) ont été inclus. Il n'y avait pas de différence significative entre le groupe des témoins et le groupe vitiligo concernant l'âge (âge moyen des hommes 40.88 (\pm 11.69) ans ; âge moyen des femmes 37.55 (\pm 12.58) ans).

Caractéristiques	Vitiligo stable (n=18)	Vitiligo progressif (n=23)	Total (N=41) ^a
Sexe, Nb. (%)			
Femme	11 (61.11)	10 (43.48)	21 (51.22)
Homme	7 (38.88)	13 (56.52)	20 (48.78)
Age à l'inclusion (années)			
Moyenne (±DS)	43.89 (±16.69)	41.78 (±15.87)	42.71 (±16.06)
Rang	20-73	18-71	18-73
Age au début du vitiligo (années)			
Moyenne (±DS)	32.78 (±17.73)	30.96 (±16.41)	31.76 (±16.81)
Rang	12-66	6-63	6-66
Durée du vitiligo (années)			
Moyenne (±DS)	11.11 (±9.89)	10.83 (±8.36)	10.95 (±8.95)
Type de vitiligo, Nb. (%)			
Acro-facial	5 (27.78)	5 (21.74)	10 (24.39)
Généralisé	13 (72.22)	13 (56.52)	26 (63.41)
Universel	0	1 (4.35)	1 (2.44)
Mixte	0	4 (17.39)	4 (9.76)
Histoire personnelle de maladie auto-immune ou auto-inflammatoire, Nb. (%)			
Oui, Thyroïdites auto-immunes	5 (27.78)	2 (8.70)	7 (17.07)
Oui, Autres maladies inflammatoires chroniques (incluant la dermatite atopique, le psoriasis, le diabète de type 1, la pelade)	7 (38.89)	8 (34.78)	15 (36.59)
Phénomène de Koebner, Nb. (%)			
Oui, Tous type	12 (66.67)	20 (86.95)	32 (78.05)
Phénomène de Koebner de type 1	5 (27.78)	5 (21.74)	10 (24.39)
Phénomène de Koebner de type 2a	10 (55.56)	18 (78.26)	28 (68.29)
Phénomène de Koebner de type 2b	1 (5.56)	7 (30.43)	8 (19.51)
Non	6 (33.33)	3 (13.04)	9 (21.95)
K-VSCOR (/56) (±DS)	30 (±11.18)	37.06 (±11.84)	33.53 (±11.90)
Surface corporelle atteinte (BSA) (%), moyenne (±DS)	7.12 (±6.48)	18.91 (±14.09)	13.73 (±12.73)
Progression du vitiligo (Spreading score), moyenne (±DS)	0.33 (±0.49)	4.35 (±0.78)	2.59 (±2.12)
Histoire personnelle d'halo-nævus, Nb. (%)			
Oui	5 (27.78)	3 (13.04)	8 (19.51)
Avant le début du vitiligo	5 (27.78)	1 (4.35)	6 (14.63)
Après le début du vitiligo	0	2 (8.70)	2 (4.88)
Non	13 (72.22)	20 (86.95)	33 (80.49)
Taux de TSH (µUI/ml), moyenne (±DS)	1.47 (±0.74)	1.55 (±0.88)	1.51 (±0.80)
Statut thyroïdien*, Nb. (%)			
Positif	6 (33.33)	6 (26.09)	12 (29.27)
Négatif	12 (66.67)	16 (69.57)	28 (68.29)

Abréviations : Nb : Nombre ; DS : Déviation Standard ; BSA : Body Surface Area

*Statut thyroïdien positif : thyroïdites et/ou présence d'anticorps anti-thyroïde.

Statut thyroïdien négatif : absence de thyroïdites et absence d'anticorps anti-thyroïdien.

^a Du fait de données parfois manquantes, la somme de chaque variable ne correspond pas toujours au nombre total de patients de la colonne (n = 41).

Tableau 5. Répartition des caractéristiques individuelles des 41 patients en fonction de l'activité du vitiligo, stable versus progressif. Activité définie selon le score de progression « spreading score ».

II. Dosage des facteurs solubles

Trente-huit facteurs solubles incluant des cytokines, chémokines, DAMPs, cluster de différenciation (CDs) et marqueurs de cytotoxicité ont été dosés dans les sérums des patients atteints de vitiligo et des sujets sains contrôles.

Afin de mieux comprendre l'implication du système immunitaire et l'impact de ces différents facteurs solubles dans la physiopathologie du vitiligo, nous les avons classés selon leur profil immunitaire. Dans un premier temps, des comparaisons entre les sujets sains et les patients ont été réalisées afin d'identifier les facteurs sériques associés au vitiligo. Puis, les patients avec un vitiligo stable ou progressif ont été comparés entre eux ainsi qu'aux sujets contrôles.

A. Analytes associés à l'immunité innée

Les résultats des dosages ELISA et des tests de Mann-Whitney concernant les analytes associés à l'immunité innée sont rapportés dans la figure 20. Les taux sériques d'IL-6 se sont révélés significativement augmentés dans le groupe vitiligo comparativement aux contrôles ($p=0.0056$) ainsi que dans le groupe des sujets progressifs ($p=0.04$) et stables ($p=0.006$) comparés aux contrôles, mais sans différence entre les 2 groupes de vitiligo (stable versus progressif, $p=0.3819$). De plus, les taux sériques de CXCL12 étaient significativement diminués dans le groupe vitiligo comparé aux contrôles ($p=0.0086$) et particulièrement dans le groupe progressif comparé aux contrôles ($p=0.0046$). Une tendance similaire était notée dans le groupe stable comparé aux contrôles ($p=0.0894$), mais aucune différence des taux de CXCL12 n'était objectivée selon l'activité du vitiligo.

Il n'y avait pas de différence significative entre le groupe vitiligo et contrôle pour les taux sériques de CCL3, CXCL4, CXCL5 (dont une partie des valeurs dépassaient le seuil supérieur de détection), CXCL8 et IFN- α . En revanche, les taux de CXCL8 étaient significativement diminués chez les patients avec un vitiligo progressif comparés aux patients avec vitiligo stable ($p=0.0018$) et les taux chez les sujets stables n'étaient pas différents des sujets contrôles. Les protéines S100B et HSP-70, appartenant aux DAMPs, ainsi que l'IL-1 β et le TNF- α n'étaient pas détectés du fait de valeurs inférieures au seuil de détection et ne sont pas représentées dans les figures.

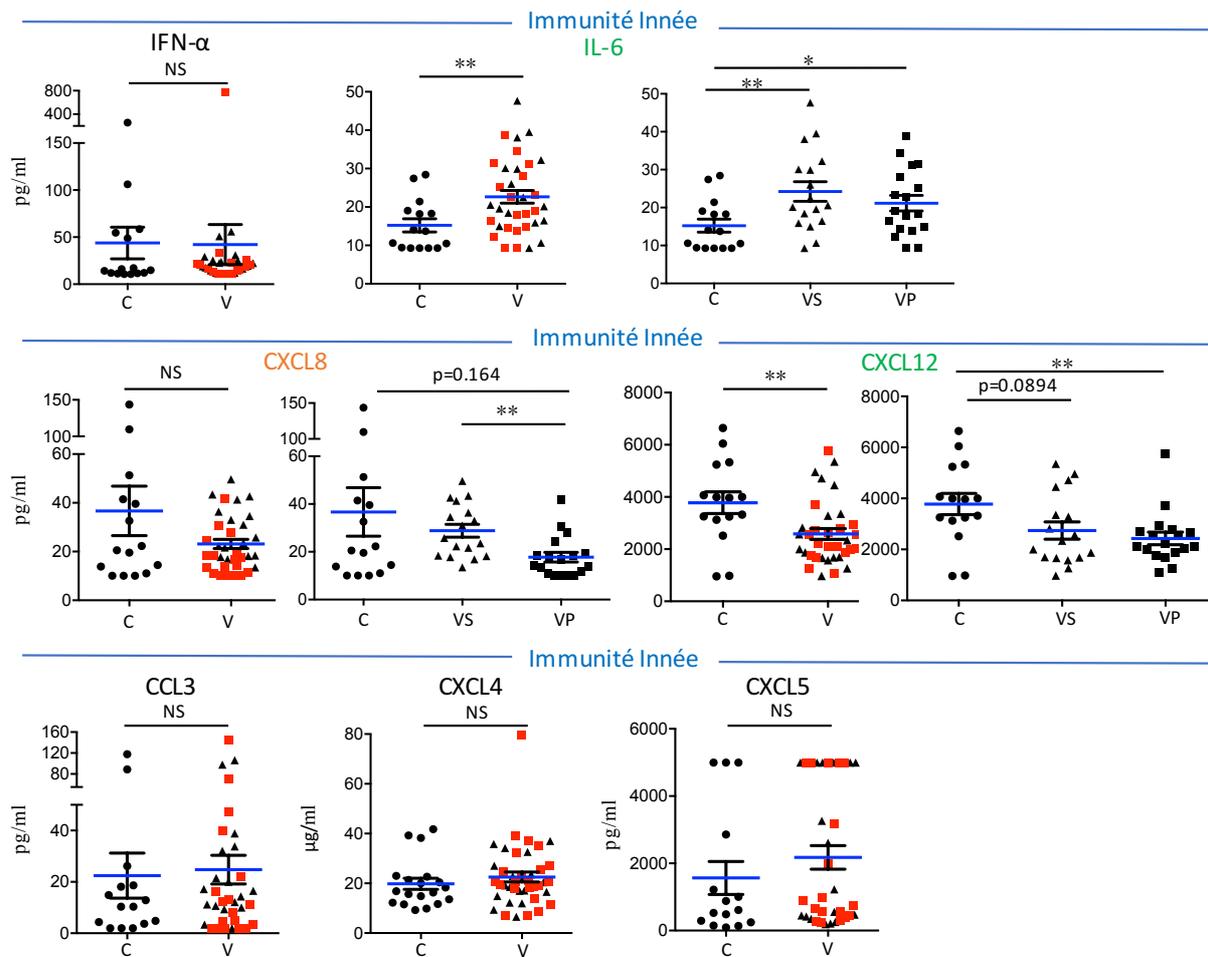


Figure 20. Analyse par ELISA des niveaux sériques de différentes cytokines et chémokines associées à une réponse immunitaire innée chez des sujets sains contrôles (C, n=15 sauf CXCL4 où n=19), et patients présentant un vitiligo (V) stable (VS, n=17 sauf CXCL4 où n=18) ou progressif (VP, n=18 sauf CXCL4 où n=23). Chaque symbole représente un individu. Les patients progressifs sont représentés pas un carré rouge dans les analyses incluant tous les patients atteints de vitiligo.

La barre d'erreur représente la moyenne \pm SEM (erreur type de la moyenne), * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; **** $p < 0.0001$; NS : Non significatif, test de Mann-Whitney. Les valeurs exactes sont notées en cas de tendance non significative.

B. Analytes associés à l'immunité adaptative

Réponse immunitaire Th1/Tc1

L'expression sérique de nombreux marqueurs associés à une réponse Th1/Tc1 (IFN- γ , IL-12, CXCL10, CXCL11) se sont révélés être significativement augmentés dans le groupe vitiligo comparé au groupe contrôle ($p=0.0038$, $p=0.023$, $p=0.0062$, $p=0.0292$, respectivement) (figure 21).

Dans l'analyse de sous-groupes, nous avons remarqué que l'augmentation des taux d'IFN- γ et d'IL-12 chez les sujets vitiligo était principalement associée aux patients stables (stables versus contrôles, $p=0.0003$ et $p=0.017$, respectivement). De façon intéressante, les niveaux de ces deux cytokines étaient plus importants chez les patients présentant un vitiligo stable en comparaison aux patients en phase active de la maladie (IFN- γ , $p=0.024$ et tendance pour l'IL-12, $p=0.0507$) ; les patients actifs ne présentant pas de différence comparés au groupe contrôle.

Concernant les chémokines CXCL10 et CXCL11, leurs taux apparaissaient augmentés chez les patients avec vitiligo stable ($p=0.0695$ et $p=0.0392$, respectivement) ou progressif ($p=0.0035$ et $p=0.0821$, respectivement) comparés aux contrôles. Une tendance à l'augmentation de CXCL10 dans le groupe progressif comparé au groupe stable était aussi notée, soulignant sa probable implication à l'activité du vitiligo ($p=0.1178$). Les taux de CXCL9 n'étaient en revanche pas modifiés entre les groupes contrôle et vitiligo.

Concernant l'IL-18, ses taux apparaissaient significativement diminués dans le groupe progressif par rapport au groupe stable ($p<0.0001$) et au groupe contrôle ($p=0.0024$).

Marqueurs de cytotoxicité

Parmi les marqueurs de cytotoxicité, la perforine ($p=0.022$), et plus modestement le granzyme B ($p=0.0577$) étaient augmentés chez les patients atteints de vitiligo comparés aux contrôles, tandis que les concentrations de sFAS ligand étaient similaires. L'augmentation des taux de perforine était retrouvée chez les patients stables ($p=0.0244$) et plus faiblement chez les patients progressifs ($p=0.085$).

Réponse immunitaire Th2

Parmi les facteurs liés à une réponse immunitaire Th2, seule une augmentation des concentrations d'IL-13 et d'IL-33 était observée chez les patients atteints de vitiligo en comparaison aux sujets contrôles ($p=0.0749$ et $p=0.0014$, respectivement) ; les taux des

chémokines CCL2, CCL4, CCL11, et CCL17 étaient similaires entre les deux groupes (figure 21). Les niveaux d'IL-33 étaient significativement augmentés chez les patients stables et progressifs, sans différence selon l'activité de la maladie. L'IL-13 tendait à être augmentée de façon significative dans le groupe progressif comparé au groupe contrôle ($p=0.054$), et une tendance similaire se dessinait en comparaison au groupe stable. A noter qu'il existait une baisse significative de l'IL-4 dans le groupe vitiligo comparé au groupe contrôle, mais les concentrations de cette cytokine restaient dans la limite de détection et ce résultat était induit par la seule valeur élevée retrouvée chez un sujet contrôle. En effet, cette significativité s'inversait dans le sens d'une augmentation significative de l'IL-4 chez les patients ($p=0.0074$) lorsque cette valeur élevée du groupe contrôle était retirée, soulignant l'intérêt d'augmenter la cohorte de patients et de sujets contrôles à tester. Cependant, ces résultats indiquent que les cytokines IL-4, IL-13 et IL-33 paraissent augmentées dans une population de patients atteints de vitiligo.

Réponse immunitaire Th17/Th22

Une élévation significative des niveaux de cytokines/chémokines associées à la voie Th17 (IL-17, IL-23, tendance pour CCL20) chez les patients atteints de vitiligo a également été mise en évidence (figure 21). Ainsi, les taux d'IL-17, d'IL-23 et de CCL20 étaient plus élevés dans le groupe vitiligo ($p=0.0138$ pour l'IL-17, $p=0.0004$ pour l'IL-23, $p=0.0541$ pour CCL20) et vitiligo stable ($p=0.003$ pour l'IL-17, $p=0.0001$ pour l'IL-23, $p=0.0072$ pour CCL20) comparés au groupe contrôle. Aussi, bien que les concentrations d'IL-17 et d'IL-23 tendaient à augmenter chez les patients présentant une maladie progressive, les taux de ces deux cytokines étaient plus faibles que chez les sujets ayant un vitiligo stable ($p=0.026$ pour l'IL-17 et tendance pour l'IL-23, $p=0.073$).

Aucune différence n'a été retrouvée pour les marqueurs IL-22 et CXCL1 entre le groupe des sujets vitiligo et le groupe contrôle. En revanche, les taux de CXCL1 étaient plus élevés dans le groupe stable comparé au groupe contrôle ($p=0.0248$), sans différence entre les patients progressifs et les sujets sains.

Réponse immunorégulatrice

L'IL-10, cytokine associée à une immunorégulation, a été trouvée à des taux plus élevés dans le groupe vitiligo comparativement aux sujets contrôles ($p=0.004$), élévation retrouvée à la fois dans le groupe des patients stables et progressifs ($p<0.0001$ et $p=0.02$). Il n'était pas noté de différence selon l'activité du vitiligo (figure 21). Les concentrations sériques de TGF-

β étaient en revanche similaires entre le groupe vitiligo et le groupe contrôle mais tendaient à être plus élevées dans le groupe des sujets progressifs que dans le groupe stable ($p=0.0831$).

Réponse lymphocytaire mémoire

Les taux d'IL-15, cytokine participant à la génération et à la fonction des LT mémoires, étaient significativement plus élevés chez les patients atteints de vitiligo, et plus particulièrement en phase active de la maladie, ($p=0.0032$ et $p=0.0011$, respectivement) en comparaison au groupe contrôle. Par ailleurs, bien que non significative, les concentrations d'IL-15 tendaient à être plus importantes lorsque la maladie progressait ($p=0.1711$). Il semble ainsi intéressant d'augmenter la cohorte de patients afin d'affiner ces résultats (figure 21).

Antigènes CD solubles

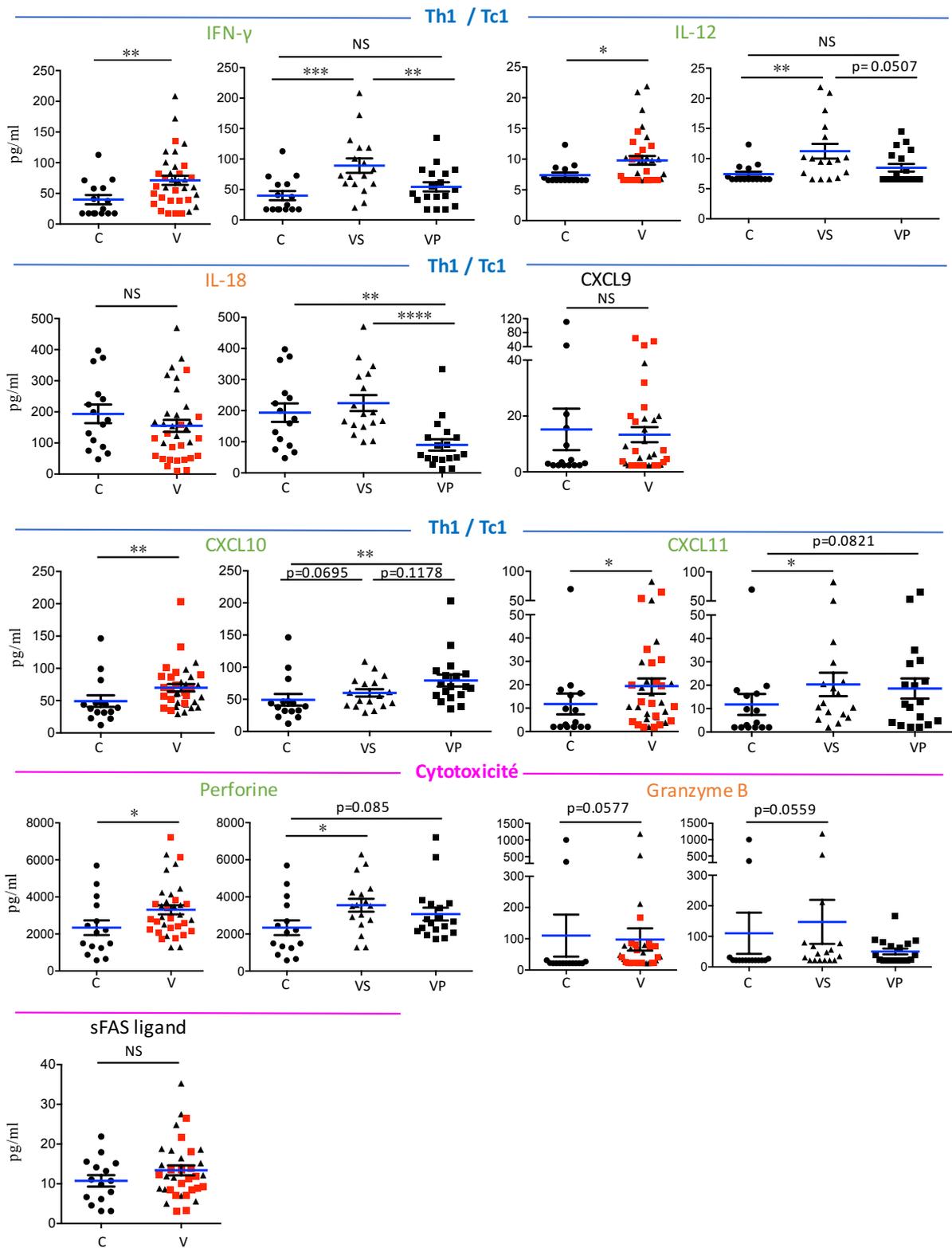
Les taux sériques des facteurs solubles CD25 et CD27 n'étaient pas différents chez les patients par rapport aux contrôles (figure 21).

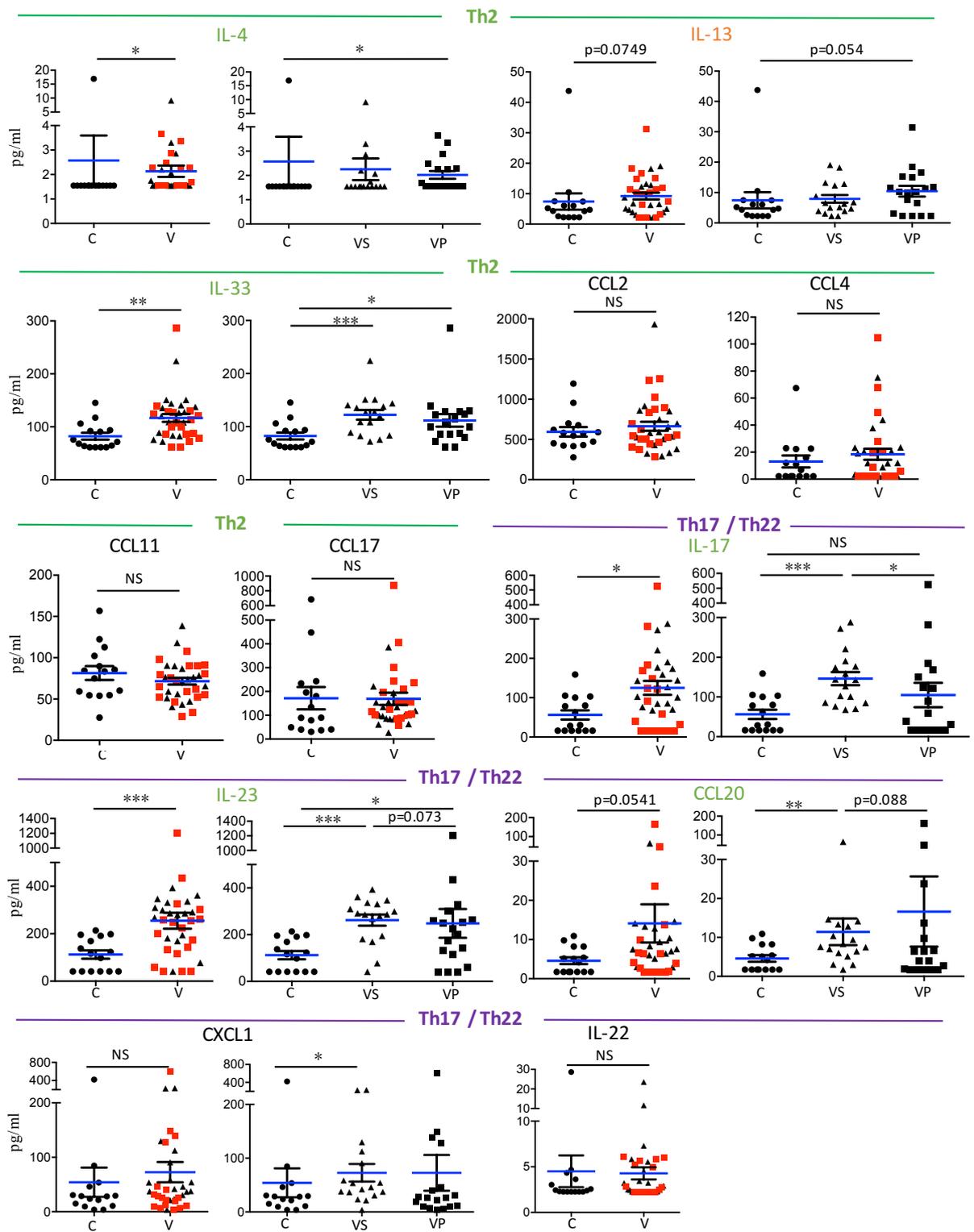
Ainsi, les échantillons sériques des patients présentaient une augmentation significative additionnelle de marqueurs liés à la fois à l'immunité innée (IL-6) et à l'immunité adaptative, intéressant différentes voies de réponse immunitaire, incluant les voies Th1/Tc1 (IFN- γ , IL-12, CXCL10, CXCL11, perforine et granzyme), Th2 (IL-33, IL-13), Th17 (IL-17, IL-23, CCL20), immunorégulatrice (IL-10) et mémoire (IL-15).

Si plusieurs de ces marqueurs pro- et anti-inflammatoires augmentaient à la fois chez les patients stables et progressifs (IL-6, CXCL10, CXCL11, IL-33, IL-23, CCL20, IL-10, IL-15), certains tendaient toutefois à être préférentiellement augmentés chez les patients stables plutôt que chez les patients progressifs (IL-6, IL-23), tandis que d'autres n'étaient augmentés que dans le groupe stable (IFN- γ , IL-12, IL-17) avec des taux non différents entre les patients progressifs et les contrôles. Au contraire, les niveaux sériques de l'IL-15 et des chémokines CXCL10 et CCL20 semblaient augmenter avec l'activité de la maladie.

Aussi, il a été constaté une diminution franche des taux de CXCL8 et d'IL-18 chez les patients progressifs par rapport aux sujets stables ou aux contrôles, tandis qu'une baisse de CXCL12 était notée chez les patients atteints de vitiligo sans différence selon le statut d'activité.

Ces résultats confortent l'existence d'une activation immunitaire systémique dans cette maladie et soulignent le caractère complexe de ses mécanismes et l'hétérogénéité de la maladie.





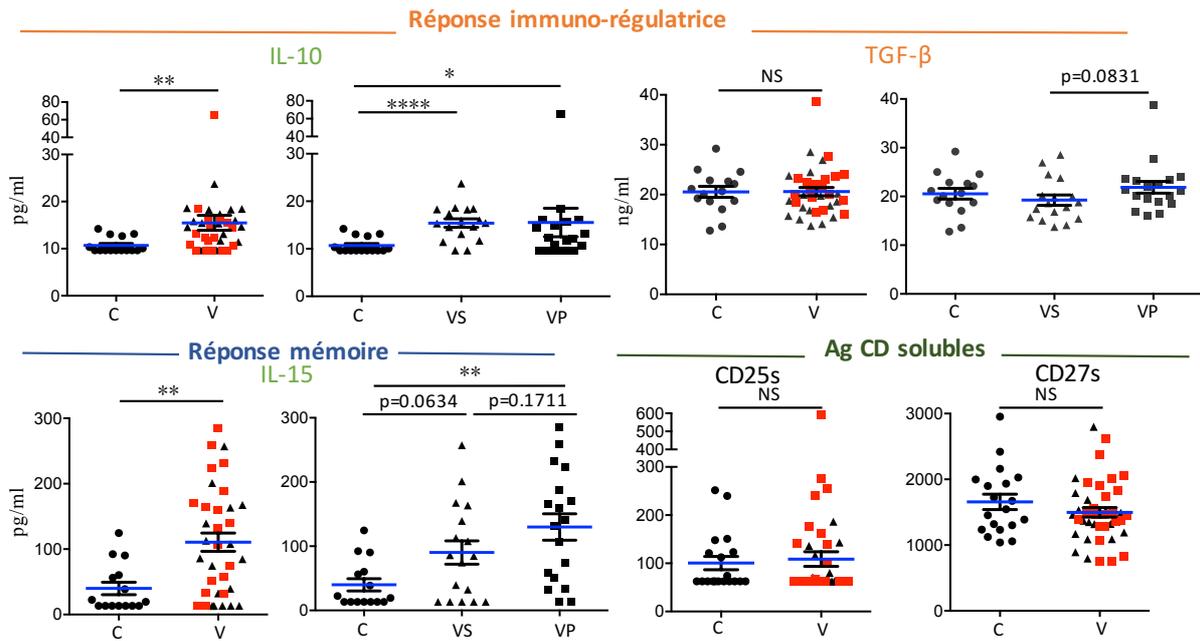


Figure 21. Analyse par ELISA des niveaux sériques de différentes cytokines et chémokines associées à une réponse immunitaire adaptative chez des sujets sains contrôles (C, n=15 sauf CD25s et CD27s où n=19), et patients présentant un vitiligo (V) stable (VS, n=17 sauf CD25s et CD27s où n=18) ou progressif (VP, n=18 sauf CD25s et CD27s où n=23). Chaque symbole représente un individu. Les patients progressifs sont représentés pas un carré rouge dans les analyses incluant tous les patients atteints de vitiligo.

La barre d'erreur représente la moyenne \pm SEM (erreur type de la moyenne), * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; **** $p < 0.0001$; NS : Non significatif, test de Mann–Whitney. Les valeurs exactes sont notées en cas de tendance non significative.

III. Etudes de corrélations

A. Entre biomarqueurs

Comme discuté dans les parties introductives, le vitiligo est considéré principalement comme une réponse immunologique de type Th1. Suite aux résultats obtenus sur les dosages sériques de l'IFN- γ et CXCL10, deux marqueurs associés à cette réponse, nous avons évalué leur éventuelle corrélation à d'autres marqueurs inflammatoires ou cliniques, en portant une attention particulière aux analytes présentant des niveaux dérégulés chez les patients atteints de vitiligo. Nous avons pris l'exemple d'un biomarqueur caractéristique de différentes voies immunitaires afin d'illustrer ces résultats (figure 22). Cette étude de corrélation intéressait les 35 patients avec vitiligo.

Ainsi, nous avons mis en évidence une corrélation positive étroite de l'IFN- γ avec d'autres marqueurs Th1 (IL-12 et IL-18, $p < 0.0001$ et $p = 0.0245$, respectivement), mais aussi avec des cytokines Th17 (IL-17 et IL-23, $p < 0.0001$ et $p = 0.0008$), Th2 (IL-33, $p < 0.0001$), immunorégulatrices (IL-10, $p < 0.0001$) et de l'immunité innée (IL-6 et CXCL8, $p < 0.0001$ et $p < 0.0001$) (figure 22 et résultats non présentés).

Concernant la chémokine CXCL10 qui tendait à augmenter chez les sujets progressifs comparativement aux sujets stables, ses taux sériques corrélaient négativement avec des facteurs de l'immunité innée (IL-6 et CXCL8, $p = 0.0077$ et $p = 0.0213$, respectivement), Th1 (IL-12 et IFN- γ , $p = 0.0007$ et $p = 0.0005$), Th17 (IL-17, $p = 0.0006$), Th2 (IL-33, $p = 0.0052$) et immunorégulateurs (IL-10, $p = 0.0032$), tandis qu'une corrélation positive de CXCL10 avec les deux autres chémokines ligands de CXCR3 était retrouvée (CXCL9 et une tendance pour CXCL11, $p = 0.0209$ et $p = 0.0524$, respectivement).

Ces résultats confortent le caractère inflammatoire du vitiligo et l'implication commune des voies Th1/Th17 dans l'inflammation des sujets atteints de vitiligo ainsi que l'intervention d'une réponse régulatrice, peut-être compensatrice. La corrélation négative de CXCL10 avec ces différents marqueurs pourrait souligner une dynamique de sécrétion différente au cours du temps entre cytokines et chémokines.

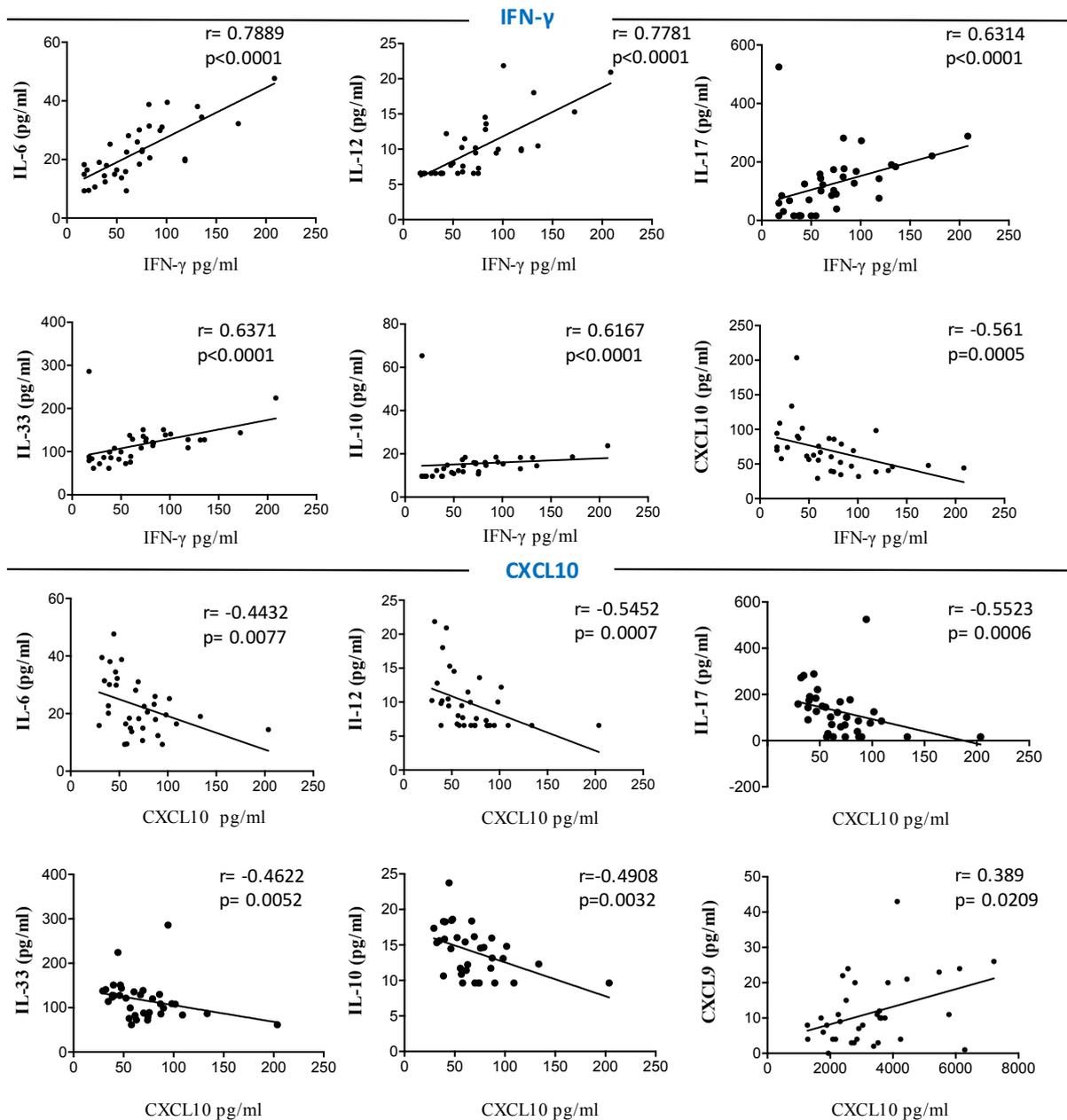


Figure 22. Etude de corrélation des biomarqueurs IFN- γ et CXCL10 avec les analytes présentant des niveaux dérégulés chez les patients atteints de vitiligo (n=35). Chaque point représente les concentrations des biomarqueurs d'intérêt chez un individu. Test de corrélation de Spearman, r = coefficient de corrélation, p = significativité statistique.

B. Avec la clinique

Surface cutanée (BSA)

Dans un premier temps, nous avons évalué de potentielles corrélations entre les différents biomarqueurs avec la surface cutanée atteinte (BSA) (figure 23). Nos résultats retrouvaient une corrélation négative pour l'IL-12 ($r=-0,3438$, $p=0.0431$), l'IFN- γ ($r=-0.3706$, $p=0.0284$), l'IL-17 ($r=-0.4658$, $p=0.0048$) et une tendance pour CXCL8 ($r=-0.2971$ et $p=0.083$), tandis qu'une corrélation positive était notée pour CXCL10 ($r=0.4874$, $p=0.003$) et une tendance était observée pour CXCL9 ($r=0.3195$, $p=0.0614$). Ces résultats sont contestables car nos 2 populations de patients n'étaient pas similaires à l'inclusion. En effet, les sujets progressifs présentaient une surface corporelle atteinte plus importante que les sujets stables.

Durée du vitiligo

Nous avons ensuite corrélé les marqueurs sériques avec la durée d'évolution du vitiligo et mis en évidence une corrélation positive pour 3 marqueurs de réponse Th1/Tc1 et de cytotoxicité, à savoir les chémokines CXCL9 ($r=0.3075$, $p=0.0724$), CXCL10 ($r=0.3844$, $p=0.0226$) ainsi que la perforine ($r=0.3612$, $p=0.033$) (figure 23).

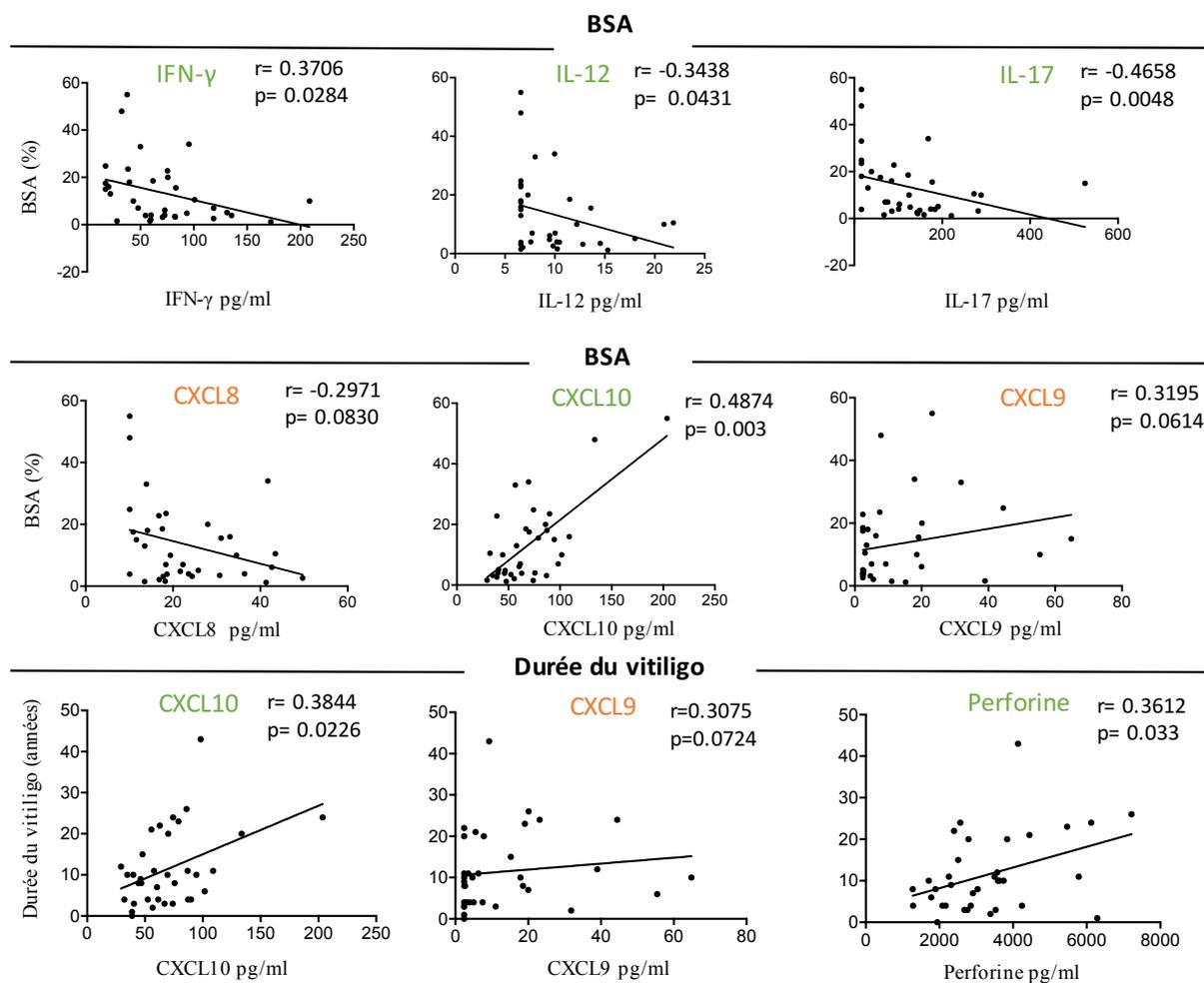


Figure 23. Etude de corrélation de biomarqueurs présentant des niveaux dérégulés chez les patients atteints de vitiligo (n=35) avec la surface corporelle atteinte (BSA) et la durée du vitiligo. Chaque point représente un individu. Test de corrélation de Spearman, r = coefficient de corrélation, p = significativité statistique.

DISCUSSION

I. Rappel des principaux résultats

A notre connaissance, notre étude est la première à mesurer simultanément un grand nombre de marqueurs sériques dans un groupe de patients atteints de vitiligo stable et progressif, sans traitement actif depuis au moins 3 mois. Quarante-et-un patients et dix-neuf contrôles ont pu être inclus dans notre étude descriptive intéressant 38 facteurs solubles. Certains de nos résultats sont apparus concordants avec les données de la littérature tandis que d'autres étaient plus inattendus.

Ainsi, les échantillons sériques des patients présentaient une élévation significative des niveaux de marqueurs liés à la fois à l'immunité innée (IL-6) et à l'immunité adaptative intéressant différentes voies de réponse immunitaire, incluant les voies Th1/Tc1 (IFN- γ , IL-12, CXCL10, CXCL11, perforine et une tendance pour granzyme), Th2 (IL-33 et une tendance pour l'IL-13), Th17 (IL-17, IL-23 et une tendance pour CCL20), immunorégulatrice (IL-10) et mémoire (IL-15). Ces résultats associés à la corrélation positive de la majorité de ces facteurs avec l'IFN- γ , cytokine clef de la physiopathologie du vitiligo, confortent l'existence d'une activation immunitaire systémique dans cette maladie inflammatoire chronique et soulignent son hétérogénéité.

Parmi ces marqueurs, l'élévation chez les patients, et notamment les patients progressifs, du facteur pro-inflammatoire CXCL10 est en accord avec les données de la littérature, tandis que d'autres facteurs ont jusqu'ici été peu (IL-6, IL-33, IL-13, IL-23, IL-10) ou non étudiés (CCL20, IL-15 ou encore la perforine et le granzyme B) dans le sérum des patients alors que leur implication dans la physiopathologie du vitiligo est suspectée.

De façon surprenante, certains de ces analytes tendaient à être significativement augmentés seulement chez les patients stables (IFN- γ , IL-12, IL-17).

A l'inverse, la chémokine CXCL12 était le seul analyte dont les taux diminuaient significativement chez les patients et les taux de CXCL8 et d'IL-18 diminuaient de façon significative seulement dans le groupe des sujets progressifs comparés aux patients contrôles.

La chémokine CXCL10 et l'IL-15 augmentaient chez les patients progressifs comparés aux sujets stables, soulignant leurs intérêts potentiels comme biomarqueurs d'activité du vitiligo.

II. Analyse des biomarqueurs entre patients et contrôles

A. Résultats concordants avec les données de la littérature

1. Marqueurs antérieurement étudiés dans le sérum de patients atteints de vitiligo

CXCL10 est la chémokine jusqu'ici la plus rapportée dans les études de marqueurs sériques du vitiligo. Son élévation dans le sérum de nos patients, et notamment chez les patients progressifs est en accord avec les résultats sériques des études antérieures (99,185,186). Aussi, l'élévation significative de l'IFN- γ chez les patients renforce l'implication de cette voie IFN- γ -CXCL10 dans le vitiligo (101,216). Toutefois, l'absence de significativité de CXCL9, autre chémokine ligand de CXCR3 est probablement liée à un manque de puissance de notre étude, car son augmentation chez les patients notamment progressifs est démontrée dans la littérature (185,186).

Alors que l'augmentation sérique de CXCL10 et à un moindre degré de CXCL9 est concordante avec les données de la littérature, la corrélation négative de CXCL10 avec d'autres marqueurs pro-inflammatoires comme l'IFN- γ , l'IL-17, et immunorégulateurs comme l'IL-10 paraît plus surprenante. Certaines hypothèses peuvent être émises : la cinétique de sécrétion des cytokines comme l'IFN- γ et des chémokines ligands comme le CXCL10 peuvent être différentes, avec une sécrétion des chémokines peut-être plus constante ou continue dans le temps permettant de mieux discriminer à un temps donné les patients progressifs des patients stables, alors que l'expression de cytokines comme l'IFN- γ est plus courte avec des taux variant peut-être plus rapidement. Par ailleurs, il peut également être suggéré que les cytokines inflammatoires comme l'IFN- γ sont principalement produites au niveau du site cutané par des lymphocytes de type Th1/Tc1 résidents ou préalablement recrutés au niveau cutané à partir du sang périphérique suite à l'expression de chémokines ligands CXCL9 et CXCL10.

Cette hypothèse de production des cytokines et chémokines selon des modèles spatiaux et temporels distincts au cours de la progression du vitiligo a déjà été soulevée dans une étude montrant une expression de CXCL9 au niveau cutané plus précoce et plus courte que celle de CXCL10 (211).

Aussi, parmi les cytokines et chémokines étudiées et connues pour leur implication dans l'immunité innée, seule l'IL-6 était augmentée chez les patients, soutenant son implication possible dans la maladie. A noter que cette cytokine intervient également dans la différenciation des LT auxiliaires naïfs en LT de type Th17. La stabilité de ses taux selon l'activité du vitiligo peut faire penser qu'elle ne participe pas aux poussées de vitiligo, comme cela est soutenu majoritairement dans la littérature (170,172,174), ou que notre étude manque de puissance puisque les taux d'IL-6 étaient corrélés aux taux d'IFN- γ , et que deux équipes ont identifié cette cytokine comme un marqueur sensible de l'activité du vitiligo (99,179). L'absence de détection de l'IL-1 β , du TNF- α , et des DAMPs (S100B et HSP-70) ne nous a pas permis d'évaluer plus précisément l'implication de l'immunité innée et des signaux de danger dans le vitiligo.

Parmi les facteurs liés à une réponse Th2, nous avons retrouvé que l'IL-33 était significativement présente à des taux plus importants chez les patients avec vitiligo comparés aux contrôles, sans variation selon l'activité du vitiligo. Une tendance similaire était notée pour l'IL-13. L'IL-33 est une cytokine appartenant à la famille de l'IL-1. Elle est principalement exprimée par les cellules des tissus barrières, et impliquée dans la différenciation des cellules Th2, elles-mêmes productrices d'IL-4, IL-5 et IL-13. Par ailleurs, cette cytokine semble constituer un « signal d'alarme » en réponse à un dommage ou une inflammation tissulaire, capable ensuite d'activer une réponse immunitaire innée puis adaptative différente selon le contexte inflammatoire (217). Alors que le rôle de cette cytokine est bien démontré au cours de pathologies inflammatoires chroniques comme le psoriasis, la PR ou les MICI, elle reste peu étudiée dans le vitiligo. Son augmentation a été rapportée à la fois dans le sang et la peau de patients (98,218). De plus, il a été montré dans le vitiligo que l'IL-33 participait à la perte des mélanocytes via l'inhibition des facteurs de croissance SCF et β -FGF et l'élévation de l'expression du TNF- α et de l'IL-6 par les kératinocytes (218). L'élévation sérique de l'IL-13 chez les patients n'avait jusqu'alors été rapportée que dans une seule étude (177).

En outre, l'élévation de l'IL-23 chez les patients atteints de vitiligo, cytokine impliquée dans la différenciation des cellules Th17, est en accord avec la seule étude rapportée (219), alors que son implication dans d'autres MAI (maladie de Crohn, psoriasis, PR) semble désormais admise (220). Les niveaux plus élevés d'IL-23, accompagnés d'une

augmentation des taux d'IL-6, pourraient favoriser la différenciation des cellules Th17 et entraîner une augmentation de la production d'IL-17 et d'IL-6.

Aussi, une augmentation significative de la production d'IL-10 dans le sérum des patients et des sujets progressifs a été observée, suggérant que l'inflammation déclenchée par la réponse immunitaire Th1/Th17 puisse avoir induit une réponse immunorégulatrice par les LTreg visant à rétablir l'équilibre immunitaire et limiter cette inflammation. La corrélation positive de l'IL-10 avec l'IFN- γ soutient cette hypothèse. Pourtant, si deux études ont déjà noté une élévation de l'IL-10 dans le sérum de patients atteints de vitiligo (172,177), aucune n'a jusqu'ici rapporté d'association de cette cytokine avec l'activité du vitiligo (82,172,177,180), et plusieurs soutiennent même un déséquilibre du système immunitaire régulateur (quantitatif et/ou qualitatif) chez les patients (4,74,78–82).

2. Marqueurs antérieurement suspectés dans le vitiligo sur des données non sériques

Le dosage sérique de l'IL-15, cytokine importante pour la réponse mémoire, n'avait jusqu'alors jamais été réalisé dans le vitiligo. Son élévation chez les patients soutient que le vitiligo est une maladie cutanée à mémoire immunitaire. En effet, de récentes études ont indiqué que la signalisation par l'IL-15 était importante pour la génération et le fonctionnement de LT_{RM} cutanés (221,222). Par la suite, il a été démontré dans un modèle murin de vitiligo que le blocage à court terme de cette cytokine ou de son récepteur réduisait la fonction effectrice des LT_{RM} (mesurée par la production d'IFN- γ) tandis qu'à long terme, il épuisait les LT_{RM} et permettait une repigmentation durable (223). Ces résultats restent à confirmer chez l'homme mais laissent présager de l'intérêt de thérapies ciblées anti-IL-15 ou anti-récepteur de l'IL-15 permettant d'obtenir des repigmentations durables chez les patients.

Enfin, l'élévation des taux de la perforine, et dans une moindre mesure de granzyme B fait suspecter que la disparition des mélanocytes soit, au moins en partie, liée à leur apoptose induite par les lymphocytes T cytotoxiques et impliquant le mécanisme perforine/granzyme. Leur dosage sérique n'avait jusqu'alors jamais été réalisé mais est en accord avec l'hypothèse de certains auteurs d'un rôle direct des LT CD8⁺ cytotoxiques dans le vitiligo (4,75,88). Ces résultats sont aussi en accord avec l'abondant infiltrat lymphocytaire T CD8 et les taux accrus

de perforine et de granzyme retrouvés au niveau cutané péri-lésionnel (67,224). Toutefois, ce mécanisme cytotoxique ne semble pas être le seul impliqué puisque les anomalies métaboliques des mélanocytes et l'hypothèse de mélanocytorrhagie, détachement des mélanocytes en partie liée à leur mauvaise adhésion au niveau de la base de l'épiderme, sont d'autres mécanismes pouvant expliquer la perte des mélanocytes au cours du vitiligo (55,107,225).

Ainsi, si l'élévation sérique de ces différents facteurs était concordante avec les résultats de plusieurs études antérieures et avec les hypothèses physiopathologiques émises dans le vitiligo, d'autres résultats se sont toutefois révélés plus surprenants.

B. Résultats contradictoires ou inattendus

1. Biomarqueurs augmentés seulement chez les sujets stables

Nous avons été surpris d'identifier trois biomarqueurs (IFN- γ , IL-12, IL-17) significativement augmentés chez les patients avec vitiligo et seulement dans le groupe des sujets stables, tandis que leurs taux chez les patients progressifs ne variaient pas du groupe contrôle.

* Parmi ces facteurs, l'IFN- γ est la cytokine la plus étudiée et semble majeure dans la physiopathologie du vitiligo. Toutefois, les résultats des études concernant ses taux sériques sont très contrastés, certaines ne relevant pas de modification des taux d'IFN- γ chez les patients (66,99,174,177), tandis que d'autres ont retrouvé des taux d'IFN- γ significativement augmentés à la fois chez les patients comparés aux contrôles et chez les sujets progressifs comparés aux sujets stables (175,176). En revanche, aucune n'a rapporté d'élévation préférentielle de cette cytokine chez les patients stables. Toutefois, la participation de l'IFN- γ dans le vitiligo laisse présager de l'utilité d'anti-JAK d'autant que d'autres cytokines utilisent cette voie JAK-STAT telles que l'IL-4, l'IL-2, l'IL-6, l'IL-15, dont certaines sont retrouvées à des taux élevés dans notre population de patients.

* L'IL-17 fait aussi partie des cytokines majoritairement étudiées. Si les résultats s'accordent sur son augmentation dans la population de patients avec vitiligo comparativement à des sujets contrôles (66,96,99,162,170,177), son implication avec l'activité du vitiligo est moins rapportée et varie toujours dans le sens d'une augmentation dans le groupe des patients progressifs versus stables (96,99,177).

* L'IL-12 est un médiateur clef de l'immunité cellulaire qui induit la différenciation des LT auxiliaires précurseurs en cellules Th1, induit la production d'IFN- γ et de TNF- α par les cellules T activées et augmente l'activité cytotoxique des cellules T et NK. Son implication dans le vitiligo n'a jusqu'alors pas été étudiée, mais son augmentation chez les patients comparés aux contrôles et sa corrélation avec l'IFN- γ est en accord avec la présence d'autres biomarqueurs Th1. De plus, l'élévation conjointe de l'IL-12 et l'IL-23 dans le vitiligo soutient que leur inhibition pourrait constituer une stratégie thérapeutique prometteuse, capable

d'améliorer l'évolution clinique du vitiligo. Il a d'ailleurs été rapporté l'amélioration d'un vitiligo chez une patiente traitée par Ustekinumab (AC monoclonal dirigé contre la sous-unité p40 commune à l'IL-12 et à l'IL-23) pour un psoriasis cutané (226).

Ainsi, l'élévation significative de l'IFN- γ , l'IL-12 et l'IL-17 chez les patients atteints de vitiligo mais principalement chez les patients stables associée à la corrélation positive étroite de l'IFN- γ avec de nombreux biomarqueurs inflammatoires de l'immunité innée et adaptative Th1/Th17 confortent le caractère inflammatoire du vitiligo et l'implication commune des voies Th1/Th17 dans la maladie. Ces données laissent suggérer un profil inflammatoire persistant chez les patients cliniquement stables à l'origine éventuelle de poussées futures de la maladie. Cependant, comme biomarqueur clinique d'activité de la maladie, l'IFN- γ , l'IL-12 ou l'IL-17 ne peuvent être utilisées contrairement au dosage de CXCL10 qui permettrait de mieux discriminer les patients progressifs des patients stables.

2. Biomarqueurs diminués chez les patients, notamment les sujets progressifs

Aussi, nous avons été surpris d'identifier une baisse des taux de CXCL8 et d'IL-18 chez les patients progressifs par rapport aux patients stables, alors que les taux de ces 2 analytes n'étaient pas différents entre les sujets stables et les contrôles. Si ces analytes n'ont jamais été dosés dans le vitiligo, leur implication dans d'autres maladies inflammatoires ou autoimmunes Th1/Th17-médiées comme le psoriasis ou la PR est observée (227–229).

Ainsi, notre résultat est d'autant plus surprenant que les taux d'IL-18 et CXCL8 sont corrélés positivement avec l'IFN- γ dont nous avons retrouvé des taux significativement accrus chez les sujets stables, suggérant que ces 2 analytes participent potentiellement à l'inflammation du vitiligo et que l'absence de différence objectivée entre le groupe stable et contrôle puisse être liée à un manque de puissance. Toutefois, la baisse significative de leurs taux chez les sujets progressifs pourrait évoquer une expression peut-être plus d'origine cutanée sans reflet de leur expression au niveau systémique.

* L'IL-18 est une cytokine membre de la famille de l'IL-1, qui nécessite comme l'IL-1 β d'être activée dans sa forme mature par la caspase 1 induite par l'inflammasome NLRP1. Si l'IL-18 participe préférentiellement à la production des cytokines de type Th1 en induisant la production d'IFN- γ , mais également des molécules cytotoxiques par les cellules T activées et les cellules NK en présence d'IL-12 ou d'IL-15, elle peut aussi en l'absence d'IL-12 augmenter la production de cytokines Th2 ou encore induire la production d'IL-17 en présence d'IL-23. Bien qu'elle n'ait jamais été dosée dans le sérum de patients atteints de vitiligo, sa participation est soutenue par les études rapportant l'implication de NLRP1 dans le vitiligo et d'autres maladies inflammatoires ou auto-immunes comme le LES, la PR, le DT1, le psoriasis ou la maladie de Crohn (230). En effet, un polymorphisme du gène *NLRP1* (25) a été démontré, ainsi que l'expression de NLRP1 au niveau des zones péri-lésionnelles de vitiligo (209,231).

* La chémokine CXCL8, anciennement nommée IL-8, est essentielle à l'activation et au recrutement des leucocytes via ses récepteurs CXCR1-2. Cet axe est impliqué dans la pathogenèse de nombreuses maladies dont l'asthme, la PR, les MICI et le psoriasis dans lesquelles l'expression de CXCL8 est stimulée par diverses cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6, CXCL12 et TNF- α) et les ROS (229). Dans le psoriasis, l'IL-17 induit la production de CXCL8 par les kératinocytes et l'utilisation d'anti-IL-17 réduit l'expression de cette

chémokine (232). Si CXCL8 n'a jamais été dosée chez les patients atteints de vitiligo, sa corrélation positive avec l'IFN- γ est en accord avec sa participation.

Nos résultats concernant CXCL12 sont aussi surprenants car il s'agit du seul biomarqueur dont les taux diminuent significativement dans le groupe vitiligo par rapport aux contrôles, sans différence selon l'activité du vitiligo. Cette chémokine a démontré son rôle clef dans l'homéostasie tissulaire et les réponses inflammatoires en dirigeant les leucocytes et lymphocytes vers le site de l'inflammation via l'expression à leur surface du CXCR4 (233). Elle s'est révélée élevée dans plusieurs autres MAI et dans des affections cutanées inflammatoires telles que le psoriasis et le lupus (234,235). Dans le vitiligo, une équipe a rapporté une élévation de sécrétion de CXCL12 par les mélanocytes de lésions précoces de vitiligo (103), et une étude sérique retrouvait une corrélation positive entre les taux de CXCL12 et l'activité récente (< 3 mois) du vitiligo (188). Ainsi, la baisse sérique de cette chémokine chez nos patients pourrait refléter sa localisation préférentielle sur le site cutané comme le suggèrent les prélèvements locaux (103). Une autre explication de la baisse de CXCL12 chez les patients serait liée à l'implication de CXCL12 dans des activités immunologiques à multiples facettes, notamment dans certains événements anti-inflammatoires en induisant la polarisation de cellules Treg productrices d'IL-10 (233). Ainsi, la baisse sérique de CXCL12 traduirait un défaut quantitatif de régulation de l'inflammation chez les patients, favorisant donc le développement du vitiligo. Cependant, ces résultats doivent être confortés par l'analyse d'un plus grand nombre de patients et d'autres recherches sur l'implication de CXCL12 dans la pathogenèse du vitiligo sont nécessaires.

III. Corrélations des biomarqueurs avec la clinique

A. Surface cutanée BSA

Nos résultats concernant la corrélation de biomarqueurs avec la surface cutanée sont contestables car nos 2 populations de patients n'étaient pas similaires à l'inclusion. En effet, les sujets progressifs présentaient une surface corporelle atteinte significativement plus importante que les sujets stables (18.91% versus 7.12%). Ainsi, nous n'avons pas tiré de conclusions de ces résultats.

B. Durée du vitiligo

En revanche, nous avons mis en évidence une corrélation positive des 2 chémokines CXCL9 et CXCL10 ainsi que du marqueur de cytotoxicité perforine avec la durée du vitiligo, soutenant que ces biomarqueurs puissent être impliqués dans la maintenance de la maladie et que celle-ci est médiée par une réponse préférentiellement Th1/Tc1, voire Th1/Th17. En effet, ces chémokines jouent un rôle essentiel dans le système immunitaire en facilitant l'activation et le trafic des cellules exprimant le CXCR3 au cours des réponses innées et adaptatives. Ces analytes pourraient ainsi constituer des marqueurs de suivi de la progression du vitiligo et de bonne réponse thérapeutique comme cela a été évoqué par quelques études (185,186,211).

IV. Limites de l'étude

A. Choix des patients

Nos deux populations de patients ne sont pas pleinement représentatives de la cohorte des sujets consultant pour vitiligo. En effet, l'objectif de cette étude exploratrice était d'obtenir deux populations bien distinctes sur le plan clinique (stable versus très progressif) afin de mettre en évidence des biomarqueurs sériques variants selon l'activité du vitiligo. Aussi, les patients ont été sélectionnés sur la base du statut d'activité du vitiligo : stable ou très progressif. Pour ce faire, nous avons volontairement exclu les vitiligos à activité intermédiaire (spreading score +2) et régressive. De plus, dans la mesure où notre étude était rétrospective, nous avons été confrontés à des données manquantes, concernant notamment la présence d'un PK et son type, le K-VSCOR, le bilan thyroïdien et le dosage des IgE. Ainsi, nous avons privilégié l'inclusion des 41 patients pour lesquels les données recueillies à la consultation étaient le plus complètes. Aussi, un PK était présent chez 78% des patients de notre cohorte alors qu'il est de 21% à 62% dans les études jusqu'ici rapportées (56). Le choix d'une population de patients très progressifs peut avoir influencé cette forte incidence du PK dont on connaît l'association positive avec l'activité du vitiligo.

Notre population était à majorité caucasienne, puisque seuls deux patients étaient d'origine arabe. De ce fait, nos résultats ne peuvent pas s'appliquer à toute une population de vitiligo, d'autant qu'il existe des polymorphismes génétiques et des phénotypes cliniques pouvant être influencés par l'origine ethnique.

L'association du vitiligo avec d'autres MAI ou inflammatoires qu'avaient certains de nos patients représente un biais supplémentaire dans l'étude de tels marqueurs. En effet, ces maladies ont également une participation immunitaire systémique impliquant les voies Th1/Th17 (psoriasis, maladie de Crohn, pemphigus, LES, DT1), Th2 (atopie), ou encore Th1/Th2 (pelade). Toutefois, nous avons décidé de conserver ces patients car l'association du vitiligo avec d'autres MAI est fréquente.

B. Puissance de l'étude

L'absence d'association de certains marqueurs avec le vitiligo et/ou son activité est peut-être liée à un défaut de puissance, les effectifs de patients restants faibles et devant être augmentés.

V. Perspectives

Notre étude exploratrice constitue une première base de données. Il serait intéressant de pouvoir confirmer ces résultats et de les élargir à une plus grande cohorte de patients, idéalement par une étude prospective multicentrique au cours de laquelle l'ensemble des données relatives au questionnaire VETF seraient recueillies.

Par ailleurs, à partir de nos résultats et des hypothèses émises, il serait intéressant de pouvoir suivre l'évolution dans le temps de ces différents biomarqueurs chez un même individu en répétant les dosages lors des phases d'évolution spontanée de la maladie et des phases de traitement. Les variations de biomarqueurs ainsi objectivées pourraient être corrélées aux événements cliniques du patient. Idéalement, la réalisation de biopsies cutanées péri-lésionnelles et non lésionnelles concomitantes aux prélèvements sériques permettrait de mieux appréhender les mécanismes impliqués dans les poussées et les épisodes de repigmentation, mais aussi de vérifier les hypothèses émises à partir de nos données biologiques.

Aussi, l'identification des analytes se modifiant chez les patients traités comparés à un groupe de patients non traités serait utile au suivi thérapeutique.

L'objectif final d'une telle approche est d'établir la carte d'identité du vitiligo et d'en définir les spécificités selon le type de vitiligo et l'activité. Dès lors, des thérapies ciblées dirigées contre les acteurs impliqués dans les poussées de vitiligo et/ou visant à rétablir les mécanismes défailants pourraient être développés. Le choix de la thérapeutique pourrait ainsi être personnalisé à la lumière des biomarqueurs impliqués chez un patient à un temps donné. Les changements de signature / profils inflammatoires des biomarqueurs identifiés seraient évalués au décours des consultations par une biologie sanguine et orienteraient la thérapeutique.

Dans ce sens, la réalisation d'études bioinformatiques serait une aide pour individualiser des combinaisons de biomarqueurs identifiant des groupes de patients tel que par exemple un panel associé au vitiligo acro-facial progressif, un panel associé à une future poussée de vitiligo etc.

CONCLUSION

Notre étude du profil sérologique des marqueurs pro- et anti- inflammatoires chez les patients atteints d'un vitiligo apporte de nombreuses données intéressantes qui seront importantes à confirmer en augmentant la population de l'étude.

Le vitiligo est à ce jour considéré comme une maladie dont le mécanisme immunologique est principalement lié à une réponse de type Th1/Tc1. Cette vision est certes confirmée par notre étude, mais elle paraît cependant trop restreinte compte tenu de nos résultats. En effet, le vitiligo apparaît être une maladie dont les mécanismes immunologiques impliqués sont bien plus complexes, avec l'implication également de profils inflammatoires et de réponses de type Th1/Th17, Th17 ou Th2 soutenues par leur corrélation positive à l'IFN- γ , cytokine clef du vitiligo. Ces résultats reflètent aussi l'hétérogénéité clinique des patients.

Toutefois, si l'élévation de plusieurs de ces facteurs pro et anti-inflammatoires chez les patients est en accord avec les données de la littérature, l'augmentation préférentielle chez les sujets stables de certaines cytokines majeures des voies Th1 et Th17 tels que l'IFN- γ , l'IL-12 et l'IL-17 pourrait suggérer un profil inflammatoire persistant chez les patients cliniquement stables, peut-être à l'origine des poussées ultérieures.

L'augmentation de la chémokine CXCL10 chez les patients progressifs comparés aux sujets stables, ainsi que celle de l'IL-15 dans une moindre mesure, souligne leurs intérêts potentiels comme biomarqueurs d'activité du vitiligo. La corrélation positive de CXCL10 avec CXCL9, mais négative avec plusieurs facteurs pro- et anti-inflammatoires dont l'IFN- γ , laisse suggérer qu'il existe un modèle de cinétique distinct entre l'expression sérique des cytokines, peut-être plus brève que celle de ces chémokines qui serait plus prolongée dans le temps comme en témoigne aussi la corrélation positive de CXCL10 et CXCL9 avec la durée d'évolution du vitiligo.

Il a également été suggéré que les cytokines inflammatoires comme l'IFN- γ soient principalement produites au site cutané par des lymphocytes de type Th1/Tc1 résidents dans la peau ou recrutés au niveau cutané à partir du sang périphérique suite à l'expression de chémokines ligands CXCL9 et CXCL10. Cette localisation cutanée préférentielle de certaines cytokines ou chémokines lors des poussées d'activité pourrait expliquer la baisse au niveau sérique de certains facteurs pro-inflammatoires comme l'IL-18, CXCL8 et CXCL12 chez les

patients, notamment progressifs. La cinétique de sécrétion et la localisation des biomarqueurs reste donc à préciser.

Les divergences retrouvées avec les études antérieures pourraient être dues en partie aux variations géographiques (population génétiquement différente), à l'activité de la maladie (définition non consensuelle) et aux MAI associées.

Ainsi, bien qu'exploratoire, cette étude nécessite des confirmations par l'inclusion d'un plus grand nombre de patients afin de confirmer ou d'infirmer certaines de nos données. Des études plus poussées prenant en compte le profil démographique et clinique des patients seront importantes à réaliser afin de déterminer peut-être des sous-groupes de patients caractérisés par un profil immunologique particulier permettant de proposer des thérapies ciblées en développement.

ANNEXES

Annexe 1. Questionnaire VETF

VETF EVALUATION FORM, JANUARY 2013

CENTER

INCLUSION NUMBER

FOLLOW-UP NUMBER

VITILIGO

Date of recording: _____		
Initial patient (S-N) _____	Date of birth _____	Sex: <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> M
Height: _____ cm	Weight: _____ Kg	
Age at onset: _____	Disease duration: _____	

TYPE OF VITILIGO (REVISED NOMENCLATURE 2012)

Vitiligo/NSV

- Acrofacial
- Generalized non acrofacial
- Universal
- Mucosal (more than one site)
- Mixed vitiligo

Undetermined vitiligo

- Focal
- Mucosal (only one site)

Segmental vitiligo (please draw segment on figure)

- Monosegmental**
- Bisegmental**
- Plurisegmental**

Disease activity-(last six months) Progressive Non progressive

Previous episodes of repigmentation: No
 Yes, *Spontaneous*
 Yes, *Following treatment*
 Yes, following *Sun exposure*

Koebner's phenomenon

Depigmentation on scars: Yes No

Koebner phenomenon Type 2a Yes No

¹ > 50% grey by 35 years (see picture)

1

² Father, mother, brother, sister, son or daughter with > 50% grey by 35 years (see picture)

VETF EVALUATION FORM, JANUARY 2013

(areas corresponding either to areas of repeated pressure or friction (e.g., elbows and knees) or areas of chronic friction related to cloths/accessory: e.g., waistband ('underwear print') hips (jeans), dorsal site of feet ('shoe-print'), wrist site of a watch, necklace or bra)

Koebner phenomenon Type 2b Yes No

(Presence at examination of linear, punctiform, or crenate depigmentation suggestive of previous injury (see figure))

K-VSCOR = sum of the score of each item from below, Maximum = 56

Disease duration > 3years	8 if yes
Forehead + scalp involvement	13 if yes
Eyelids involvement	8 if yes
Wrists involvement	6 if yes
Panty underwear (belt and genital areas) involvement	8 if yes
Knees involvement	6 if yes
Tibial crests involvement	7 if yes
Total	56 if yes for items

Stress: As onset factor: Yes No
 As precipitating factor Stress full event Physical stress
 If yes which kind of stress?: _____

Itch before lesions (on lesional area) Yes No

Vitiligo on genitals Yes No

Presence of thyroid autoantibodies: Yes Anti-Thyroperoxidase titers
 Yes Anti-Thyroglobulin, titers
 No
 Unknown

Personal History of premature hair greying¹ Yes No

Family history of premature hair greying² Yes No
 (if yes, inform family tree)

Family history of vitiligo (give precision on type of vitiligo/NSV vs segmental)
 Yes No Do not know

¹ > 50% grey by 35 years (see picture)

²

Father, mother, brother, sister, son or daughter with > 50% grey by 35 years (see picture)

VETF EVALUATION FORM, JANUARY 2013

Type of Treatment	Duration	Helpful*	
	(# Weeks)	Useful	Not Useful
Topical corticosteroids		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Vit D analogues		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Systemic corticosteroids		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Systemic antioxidant		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Topical immunomodulators		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Phototherapies		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Photochemiotherapies		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Other 1		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Other 2		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

- Global patient's judgement

Current Treatment : _____ Date of beginning: _____

¹ > 50% grey by 35 years (see picture)

3

² Father, mother, brother, sister, son or daughter with > 50% grey by 35 years (see picture)

VETF EVALUATION FORM, JANUARY 2013

Global QoL assessment (short term)

"How does vitiligo currently (last week) affects your everyday life"

I=====I
Not at all very much

Other personal autoimmune/autoinflammatory diseases Yes No

If yes:

- Thyroid disease
- Thyroiditis (Hashimoto's or other)
- Basedow's disease
- Goiter
- Unknown (ex: hypothyroiditis)
- Atopic dermatitis,
- Allergic rhinitis or conjunctivitis,
- Asthma
- Psoriasis
- Rheumatoid arthritis and other autoimmune rheumatic disorders
- Diabetes type 1
- Crohn's disease/ ulcerative colitis
- Alopecia areata
- Lupus erythematosus
- Multiple sclerosis
- Do not know

Other chronic diseases and treatments (list)

Family history of autoimmune/autoinflammatory diseases Yes No

If yes:

- Thyroid disease
- Thyroiditis (Hashimoto's or other)
- Basedow's disease
- Goiter
- Unknown (ex: hypothyroiditis)
- Atopic dermatitis,
- Allergic rhinitis or conjunctivitis,
- Asthma
- Psoriasis
- Rheumatoid arthritis and other autoimmune rheumatic disorders
- Diabetes type 1
- Crohn's disease/ ulcerative colitis
- Alopecia areata
- Lupus erythematosus
- Multiple sclerosis
- Do not know

¹ > 50% grey by 35 years (see picture)

4

² Father, mother, brother, sister, son or daughter with > 50% grey by 35 years (see picture)

Detail if family history if needed and draw family tree

Phototype Fitzpatrick's skin type I II III IV V VI

Ethnic Origin: _____

Halo Nevus: None One 2 to 5 More than 5 (how many?)

Halo nevus before the onset of vitiligo?

Yes No Unknown

Localization of halo nevi:

Trunk Lower limbs Upper limbs Face and Neck

Do you have any history of skin cancer?

Yes before vitiligo Yes after vitiligo No Do not know

If you have a history of skin cancer, what type?

Melanoma SCC BCC other Do not know

If you have a history of skin cancer, did the cancer occur in a vitiligo lesion?

Yes No Unknown

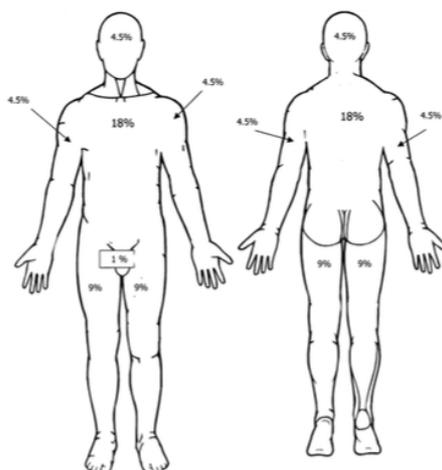
¹ > 50% grey by 35 years (see picture)

5

² Father, mother, brother, sister, son or daughter with > 50% grey by 35 years (see picture)

VETF EVALUATION FORM, JANUARY 2013

Clinical photograph reference(s)



The patient palm including digits averages 1% of BSA (body surface area)
Please draw the patches and mark the evaluated patches on figure

area	% area	Staging (0-3) largest patch in each area	Spreading (-1 +1) largest patch in each area
Head and neck	0-9%		
Trunk	0-36%		
Arms (inc. hands)	0-18%		
Legs (inc. feet)	0-36%		
Hands and feet	XXXXXXXXXXXX		
Totals	0-100%	0-15	(-5 +5)

Child under 5: changes for head and neck total 18% (9% front and back); legs 13,5% each (6, 75 % front and back); no change in other parts

STAGING SCORE

0	normal pigmentation (no depigmentation)
1	incomplete depigmentation (incl spotty depigmentation, trichrome and homogeneous lighter pigmentation)
2	complete depigmentation (may include hair whitening in a minority of hairs, less than 30%)
3	complete depigmentation plus significant hair whitening (more than 30%)

SPREADING SCORE

-1	regressive vitiligo	ongoing subclinical repigmentation
0	similar limits	
+1	progressive vitiligo	ongoing subclinical depigmentation

¹ > 50% grey by 35 years (see picture)

² Father, mother, brother, sister, son or daughter with > 50% grey by 35 years (see picture)

BIBLIOGRAPHIE

1. Taïeb A, Picardo M. Clinical practice. Vitiligo. *N Engl J Med*. 8 janv 2009;360(2):160-9.
2. Harris JE, Harris TH, Weninger W, Wherry EJ, Hunter CA, Turka LA. A mouse model of vitiligo with focused epidermal depigmentation requires IFN- γ for autoreactive CD8⁺ T-cell accumulation in the skin. *J Invest Dermatol*. juill 2012;132(7):1869-76.
3. Le Poole IC, van den Wijngaard RM, Westerhof W, Das PK. Presence of T cells and macrophages in inflammatory vitiligo skin parallels melanocyte disappearance. *Am J Pathol*. avr 1996;148(4):1219-28.
4. Lili Y, Yi W, Ji Y, Yue S, Weimin S, Ming L. Global activation of CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes correlates with an impairment in regulatory T cells in patients with generalized vitiligo. *PloS One*. 2012;7(5):e37513.
5. Ezzedine K, Lim HW, Suzuki T, Katayama I, Hamzavi I, Lan CCE, et al. Revised classification/nomenclature of vitiligo and related issues: the Vitiligo Global Issues Consensus Conference. *Pigment Cell Melanoma Res*. mai 2012;25(3):E1-13.
6. Taïeb A, Picardo M, VETF Members. The definition and assessment of vitiligo: a consensus report of the Vitiligo European Task Force. *Pigment Cell Res*. févr 2007;20(1):27-35.
7. Benzekri L, Gauthier Y. Clinical markers of vitiligo activity. *J Am Acad Dermatol*. mai 2017;76(5):856-62.
8. Elbuluk N, Ezzedine K. Quality of Life, Burden of Disease, Co-morbidities, and Systemic Effects in Vitiligo Patients. *Dermatol Clin*. avr 2017;35(2):117-28.
9. Taïeb A, Alomar A, Böhm M, Dell'anna ML, De Pase A, Eleftheriadou V, et al. Guidelines for the management of vitiligo: the European Dermatology Forum consensus. *Br J Dermatol*. janv 2013;168(1):5-19.
10. Taïeb A, Ezzedine K. Vitiligo: the white armour? *Pigment Cell Melanoma Res*. 8 févr 2013;
11. Teulings HE, Overkamp M, Ceylan E, Nieuweboer-Krobotova L, Bos JD, Nijsten T, et al. Decreased risk of melanoma and nonmelanoma skin cancer in patients with vitiligo: a survey among 1307 patients and their partners. *Br J Dermatol*. janv 2013;168(1):162-71.
12. Paradisi A, Tabolli S, Didona B, Sobrino L, Russo N, Abeni D. Markedly reduced incidence of melanoma and nonmelanoma skin cancer in a nonconcurrent cohort of 10,040 patients with vitiligo. *J Am Acad Dermatol*. déc 2014;71(6):1110-6.
13. Boniface K, Seneschal J, Picardo M, Taïeb A. Vitiligo: Focus on Clinical Aspects, Immunopathogenesis, and Therapy. *Clin Rev Allergy Immunol*. 6 juill 2017;
14. Speeckaert R, van Geel N. Vitiligo: An Update on Pathophysiology and Treatment Options. *Am J Clin Dermatol*. déc 2017;18(6):733-44.
15. Nath SK, Majumder PP, Nordlund JJ. Genetic epidemiology of vitiligo: multilocus recessivity cross-validated. *Am J Hum Genet*. nov 1994;55(5):981-90.
16. Alkhateeb A, Fain PR, Thody A, Bennett DC, Spritz RA. Epidemiology of vitiligo and associated autoimmune diseases in Caucasian probands and their families. *Pigment Cell Res*. juin 2003;16(3):208-14.
17. Cavalli G, Hayashi M, Jin Y, Yorgov D, Santorico SA, Holcomb C, et al. MHC class II super-enhancer increases surface expression of HLA-DR and HLA-DQ and affects cytokine production in autoimmune vitiligo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2 févr 2016;113(5):1363-8.
18. Hayashi M, Jin Y, Yorgov D, Santorico SA, Hagman J, Ferrara TM, et al. Autoimmune vitiligo is associated with gain-of-function by a transcriptional regulator that elevates

- expression of HLA-A*02:01 in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2 févr 2016;113(5):1357-62.
19. Spritz RA. The genetics of vitiligo. *J Invest Dermatol*. 17 nov 2011;131(E1):E18-20.
 20. Jin Y, Birlea SA, Fain PR, Gowan K, Riccardi SL, Holland PJ, et al. Genome-wide analysis identifies a quantitative trait locus in the MHC class II region associated with generalized vitiligo age of onset. *J Invest Dermatol*. juin 2011;131(6):1308-12.
 21. Ren Y, Yang S, Xu S, Gao M, Huang W, Gao T, et al. Genetic Variation of Promoter Sequence Modulates XBP1 Expression and Genetic Risk for Vitiligo. *PLoS Genet* [Internet]. 19 juin 2009 [cité 1 déc 2017];5(6). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2689933/>
 22. Lee A-H, Iwakoshi NN, Glimcher LH. XBP-1 regulates a subset of endoplasmic reticulum resident chaperone genes in the unfolded protein response. *Mol Cell Biol*. nov 2003;23(21):7448-59.
 23. Birlea SA, Jin Y, Bennett DC, Herbstman DM, Wallace MR, McCormack WT, et al. Comprehensive Association Analysis of Candidate Genes for Generalized Vitiligo Supports XBP1, FOXP3, and TSLP. *J Invest Dermatol*. févr 2011;131(2):371-81.
 24. Jin Y, Mailloux CM, Gowan K, Riccardi SL, LaBerge G, Bennett DC, et al. NALP1 in vitiligo-associated multiple autoimmune disease. *N Engl J Med*. 22 mars 2007;356(12):1216-25.
 25. Jin Y, Birlea SA, Fain PR, Spritz RA. Genetic variations in NALP1 are associated with generalized vitiligo in a Romanian population. *J Invest Dermatol*. nov 2007;127(11):2558-62.
 26. Jin Y, Andersen GHL, Santorico SA, Spritz RA. Multiple Functional Variants of IFIH1, a Gene Involved in Triggering Innate Immune Responses, Protect against Vitiligo. *J Invest Dermatol*. févr 2017;137(2):522-4.
 27. Song GG, Kim J-H, Lee YH. The CTLA-4 +49 A/G, CT60 A/G and PTPN22 1858 C/T polymorphisms and susceptibility to vitiligo: a meta-analysis. *Mol Biol Rep*. avr 2013;40(4):2985-93.
 28. Birlea SA, Laberge GS, Procopciuc LM, Fain PR, Spritz RA. CTLA4 and generalized vitiligo: two genetic association studies and a meta-analysis of published data. *Pigment Cell Melanoma Res*. avr 2009;22(2):230-4.
 29. Alkhateeb A, Fain PR, Spritz RA. Candidate functional promoter variant in the FOXD3 melanoblast developmental regulator gene in autosomal dominant vitiligo. *J Invest Dermatol*. août 2005;125(2):388-91.
 30. Schunter JA, Löffler D, Wiesner T, Kovacs P, Badenhop K, Aust G, et al. A novel FoxD3 Variant Is Associated With Vitiligo and Elevated Thyroid Auto-Antibodies. *J Clin Endocrinol Metab*. oct 2015;100(10):E1335-1342.
 31. Jin Y, Birlea SA, Fain PR, Gowan K, Riccardi SL, Holland PJ, et al. Variant of TYR and Autoimmunity Susceptibility Loci in Generalized Vitiligo. *N Engl J Med*. 6 mai 2010;362(18):1686-97.
 32. Rezaei N, Gavalas NG, Weetman AP, Kemp EH. Autoimmunity as an aetiological factor in vitiligo. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV*. août 2007;21(7):865-76.
 33. Jin Y, Birlea SA, Fain PR, Ferrara TM, Ben S, Riccardi SL, et al. Genome-wide association analyses identify 13 new susceptibility loci for generalized vitiligo. *Nat Genet*. 6 mai 2012;44(6):676-80.
 34. Spritz RA. The genetics of generalized vitiligo: autoimmune pathways and an inverse relationship with malignant melanoma. *Genome Med*. 19 oct 2010;2(10):78.
 35. Casp CB, She J-X, McCormack WT. Genetic Association of the Catalase Gene (CAT) with Vitiligo Susceptibility. *Pigment Cell Res*. 1 févr 2002;15(1):62-6.

36. Schallreuter KU, Moore J, Wood JM, Beazley WD, Gaze DC, Tobin DJ, et al. In vivo and in vitro evidence for hydrogen peroxide (H₂O₂) accumulation in the epidermis of patients with vitiligo and its successful removal by a UVB-activated pseudocatalase. *J Invest Dermatol Symp Proc.* sept 1999;4(1):91-6.
37. Picardo M, Dell'Anna ML, Ezzedine K, Hamzavi I, Harris JE, Parsad D, et al. Vitiligo. *Nat Rev Dis Primer.* 04 2015;1:15011.
38. Vrijman C, Hosseinpour D, Bakker JG, Wolkerstorfer A, Bos JD, van der Veen JPW, et al. Provoking factors, including chemicals, in Dutch patients with vitiligo. *Br J Dermatol.* mai 2013;168(5):1003-11.
39. Wood JM, Chavan B, Hafeez I, Schallreuter KU. Regulation of tyrosinase by tetrahydropteridines and H₂O₂. *Biochem Biophys Res Commun.* 24 déc 2004;325(4):1412-7.
40. Hasse S, Gibbons NCJ, Rokos H, Marles LK, Schallreuter KU. Perturbed 6-tetrahydrobiopterin recycling via decreased dihydropteridine reductase in vitiligo: more evidence for H₂O₂ stress. *J Invest Dermatol.* févr 2004;122(2):307-13.
41. Schallreuter KU, Wood JM, Ziegler I, Lemke KR, Pittelkow MR, Lindsey NJ, et al. Defective tetrahydrobiopterin and catecholamine biosynthesis in the depigmentation disorder vitiligo. *Biochim Biophys Acta.* 25 mai 1994;1226(2):181-92.
42. Schallreuter KU, Wood JM, Berger J. Low catalase levels in the epidermis of patients with vitiligo. *J Invest Dermatol.* déc 1991;97(6):1081-5.
43. Agrawal D, Shajil EM, Marfatia YS, Begum R. Study on the antioxidant status of vitiligo patients of different age groups in Baroda. *Pigment Cell Res.* juin 2004;17(3):289-94.
44. Shajil EM, Begum R. Antioxidant status of segmental and non-segmental vitiligo. *Pigment Cell Res.* avr 2006;19(2):179-80.
45. Xiao B-H, Shi M, Chen H, Cui S, Wu Y, Gao X-H, et al. Glutathione Peroxidase Level in Patients with Vitiligo: A Meta-Analysis. *BioMed Res Int.* 2016;2016:3029810.
46. Sravani PV, Babu NK, Gopal KVT, Rao GRR, Rao AR, Moorthy B, et al. Determination of oxidative stress in vitiligo by measuring superoxide dismutase and catalase levels in vitiliginous and non-vitiliginous skin. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* juin 2009;75(3):268-71.
47. Shi M-H, Wu Y, Li L, Cai Y-F, Liu M, Gao X-H, et al. Meta-analysis of the association between vitiligo and the level of superoxide dismutase or malondialdehyde. *Clin Exp Dermatol.* janv 2017;42(1):21-9.
48. Dell'Anna ML, Urbanelli S, Mastrofrancesco A, Camera E, Iacovelli P, Leone G, et al. Alterations of mitochondria in peripheral blood mononuclear cells of vitiligo patients. *Pigment Cell Res.* oct 2003;16(5):553-9.
49. Dell'Anna ML, Ottaviani M, Kovacs D, Mirabilii S, Brown DA, Cota C, et al. Energetic mitochondrial failing in vitiligo and possible rescue by cardiolipin. *Sci Rep.* 20 oct 2017;7(1):13663.
50. Jian Z, Li K, Liu L, Zhang Y, Zhou Z, Li C, et al. Heme oxygenase-1 protects human melanocytes from H₂O₂-induced oxidative stress via the Nrf2-ARE pathway. *J Invest Dermatol.* juill 2011;131(7):1420-7.
51. Jian Z, Li K, Song P, Zhu G, Zhu L, Cui T, et al. Impaired activation of the Nrf2-ARE signaling pathway undermines H₂O₂-induced oxidative stress response: a possible mechanism for melanocyte degeneration in vitiligo. *J Invest Dermatol.* août 2014;134(8):2221-30.
52. He Y, Li S, Zhang W, Dai W, Cui T, Wang G, et al. Dysregulated autophagy increased melanocyte sensitivity to H₂O₂-induced oxidative stress in vitiligo. *Sci Rep.* 10 févr 2017;7:42394.
53. Miller RA. The Koebner phenomenon. *Int J Dermatol.* mai 1982;21(4):192-7.

54. Gauthier Y, Cario-Andre M, Lepreux S, Pain C, Taïeb A. Melanocyte detachment after skin friction in non lesional skin of patients with generalized vitiligo. *Br J Dermatol.* janv 2003;148(1):95-101.
55. Gauthier Y, Cario Andre M, Taïeb A. A critical appraisal of vitiligo etiologic theories. Is melanocyte loss a melanocytorrhagy? *Pigment Cell Res.* août 2003;16(4):322-32.
56. van Geel N, Speeckaert R, Taieb A, Picardo M, Böhm M, Gawkrödger DJ, et al. Koebner's phenomenon in vitiligo: European position paper. *Pigment Cell Melanoma Res.* juin 2011;24(3):564-73.
57. Li M, Gao Y, Li C, Liu L, Li K, Gao L, et al. Association of COX2 functional polymorphisms and the risk of vitiligo in Chinese populations. *J Dermatol Sci.* mars 2009;53(3):176-81.
58. Boissy RE, Manga P. On the etiology of contact/occupational vitiligo. *Pigment Cell Res.* juin 2004;17(3):208-14.
59. Harris JE. Chemical-Induced Vitiligo. *Dermatol Clin.* avr 2017;35(2):151-61.
60. Abe Y, Okamura K, Kawaguchi M, Hozumi Y, Aoki H, Kunisada T, et al. Rhododenol-induced leukoderma in a mouse model mimicking Japanese skin. *J Dermatol Sci.* janv 2016;81(1):35-43.
61. Toosi S, Orlow SJ, Manga P. Vitiligo-inducing phenols activate the unfolded protein response in melanocytes resulting in upregulation of IL6 and IL8. *J Invest Dermatol.* nov 2012;132(11):2601-9.
62. Kroll TM, Bommasamy H, Boissy RE, Hernandez C, Nickoloff BJ, Mestril R, et al. 4-Tertiary butyl phenol exposure sensitizes human melanocytes to dendritic cell-mediated killing: relevance to vitiligo. *J Invest Dermatol.* avr 2005;124(4):798-806.
63. Kim JY, Lee EJ, Seo J, Oh SH. Impact of high-mobility group box 1 on melanocytic survival and its involvement in the pathogenesis of vitiligo. *Br J Dermatol.* juin 2017;176(6):1558-68.
64. Zhang Y, Liu L, Jin L, Yi X, Dang E, Yang Y, et al. Oxidative stress-induced calreticulin expression and translocation: new insights into the destruction of melanocytes. *J Invest Dermatol.* janv 2014;134(1):183-91.
65. Speeckaert R, Voet S, Hoste E, van Geel N. S100B Is a Potential Disease Activity Marker in Nonsegmental Vitiligo. *J Invest Dermatol.* juill 2017;137(7):1445-53.
66. Bhardwaj S, Rani S, Srivastava N, Kumar R, Parsad D. Increased systemic and epidermal levels of IL-17A and IL-1 β promotes progression of non-segmental vitiligo. *Cytokine.* mars 2017;91:153-61.
67. Bertolotti A, Boniface K, Vergier B, Mossalayi D, Taieb A, Ezzedine K, et al. Type I interferon signature in the initiation of the immune response in vitiligo. *Pigment Cell Melanoma Res.* mai 2014;27(3):398-407.
68. Fonteneau J-F, Gilliet M, Larsson M, Dasilva I, Münz C, Liu Y-J, et al. Activation of influenza virus-specific CD4+ and CD8+ T cells: a new role for plasmacytoid dendritic cells in adaptive immunity. *Blood.* 1 mai 2003;101(9):3520-6.
69. Jacquemin C, Rambert J, Guillet S, Thiolat D, Boukhedouni N, Doutre M-S, et al. Heat shock protein 70 potentiates interferon alpha production by plasmacytoid dendritic cells: relevance for cutaneous lupus and vitiligo pathogenesis. *Br J Dermatol.* 5 avr 2017;
70. Norris DA, Kissinger RM, Naughton GM, Bystryn JC. Evidence for immunologic mechanisms in human vitiligo: patients' sera induce damage to human melanocytes in vitro by complement-mediated damage and antibody-dependent cellular cytotoxicity. *J Invest Dermatol.* juin 1988;90(6):783-9.
71. Gilhar A, Zelickson B, Ulman Y, Etzioni A. In vivo destruction of melanocytes by the IgG fraction of serum from patients with vitiligo. *J Invest Dermatol.* nov 1995;105(5):683-6.

72. Okamoto T, Irie RF, Fujii S, Huang SK, Nizze AJ, Morton DL, et al. Anti-tyrosinase-related protein-2 immune response in vitiligo patients and melanoma patients receiving active-specific immunotherapy. *J Invest Dermatol.* déc 1998;111(6):1034-9.
73. Kemp EH, Gawkrödger DJ, Watson PF, Weetman AP. Autoantibodies to human melanocyte-specific protein pmel17 in the sera of vitiligo patients: a sensitive and quantitative radioimmunoassay (RIA). *Clin Exp Immunol.* déc 1998;114(3):333-8.
74. Dwivedi M, Laddha NC, Arora P, Marfatia YS, Begum R. Decreased regulatory T-cells and CD4(+)/CD8(+) ratio correlate with disease onset and progression in patients with generalized vitiligo. *Pigment Cell Melanoma Res.* juill 2013;26(4):586-91.
75. van den Boorn JG, Konijnenberg D, DelleMijn TAM, van der Veen JPW, Bos JD, Melief CJM, et al. Autoimmune destruction of skin melanocytes by perilesional T cells from vitiligo patients. *J Invest Dermatol.* sept 2009;129(9):2220-32.
76. Wańkiewicz-Kalińska A, van den Wijngaard RMJGJ, Tigges BJ, Westerhof W, Ogg GS, Cerundolo V, et al. Immunopolarization of CD4+ and CD8+ T cells to Type-1-like is associated with melanocyte loss in human vitiligo. *Lab Investig J Tech Methods Pathol.* mai 2003;83(5):683-95.
77. Boniface K, Jacquemin C, Darrigade A-S, Dessarthe B, Martins C, Boukhedouni N, et al. Vitiligo skin is imprinted with resident memory CD8 T cells expressing CXCR3. *J Invest Dermatol.* 16 sept 2017;
78. Hegab DS, Attia MAS. Decreased Circulating T Regulatory Cells in Egyptian Patients with Nonsegmental Vitiligo: Correlation with Disease Activity. *Dermatol Res Pract.* 2015;2015:145409.
79. Zhang Q, Cui T, Chang Y, Zhang W, Li S, He Y, et al. HO-1 regulates the function of Treg: Association with the immune intolerance in vitiligo. *J Cell Mol Med.* 5 juill 2018;
80. Ben Ahmed M, Zaraa I, Rekik R, Elbeldi-Ferchiou A, Kourda N, Belhadj Hmida N, et al. Functional defects of peripheral regulatory T lymphocytes in patients with progressive vitiligo. *Pigment Cell Melanoma Res.* janv 2012;25(1):99-109.
81. Moftah NH, El-Barbary RAH, Ismail MA, Ali NAM. Effect of narrow band-ultraviolet B on CD4(+) CD25(high) FoxP3(+) T-lymphocytes in the peripheral blood of vitiligo patients. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* oct 2014;30(5):254-61.
82. Lin M, Zhang B-X, Shen N, Dong X-J, Zhang C, Qi X-Y, et al. Regulatory T cells from active non-segmental vitiligo exhibit lower suppressive ability on CD8+CLA+ T cells. *Eur J Dermatol EJD.* déc 2014;24(6):676-82.
83. van den Wijngaard R, Wankowicz-Kalinska A, Le Poole C, Tigges B, Westerhof W, Das P. Local immune response in skin of generalized vitiligo patients. Destruction of melanocytes is associated with the prominent presence of CLA+ T cells at the perilesional site. *Lab Investig J Tech Methods Pathol.* août 2000;80(8):1299-309.
84. Abdallah M, Lotfi R, Othman W, Galal R. Assessment of tissue FoxP3+, CD4+ and CD8+ T-cells in active and stable nonsegmental vitiligo. *Int J Dermatol.* août 2014;53(8):940-6.
85. Abdallah M, Lotfi R, Othman W, Galal R. Assessment of tissue FoxP3+, CD4+ and CD8+ T-cells in active and stable nonsegmental vitiligo. *Int J Dermatol.* août 2014;53(8):940-6.
86. Gray JI, Westerhof LM, MacLeod MKL. The roles of resident, central and effector memory CD4 T cells in protective immunity following infection or vaccination. *Immunology.* 23 mars 2018;
87. Clark RA. Resident memory T cells in human health and disease. *Sci Transl Med.* 7 janv 2015;7(269):269rv1.
88. Wańkiewicz-Kalińska A, van den Wijngaard RMJGJ, Tigges BJ, Westerhof W, Ogg GS, Cerundolo V, et al. Immunopolarization of CD4+ and CD8+ T cells to Type-1-like is

- associated with melanocyte loss in human vitiligo. *Lab Investig J Tech Methods Pathol.* mai 2003;83(5):683-95.
89. Natarajan VT, Ganju P, Singh A, Vijayan V, Kirty K, Yadav S, et al. IFN- γ signaling maintains skin pigmentation homeostasis through regulation of melanosome maturation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 11 févr 2014;111(6):2301-6.
 90. Moretti S, Fabbri P, Baroni G, Berti S, Bani D, Berti E, et al. Keratinocyte dysfunction in vitiligo epidermis: cytokine microenvironment and correlation to keratinocyte apoptosis. *Histol Histopathol.* 2009;24(7):849-57.
 91. Camara-Lemarroy CR, Salas-Alanis JC. The role of tumor necrosis factor- α in the pathogenesis of vitiligo. *Am J Clin Dermatol.* oct 2013;14(5):343-50.
 92. Singh RK, Lee KM, Vujkovic-Cvijin I, Ucmak D, Farahnik B, Abrouk M, et al. The role of IL-17 in vitiligo: A review. *Autoimmun Rev.* avr 2016;15(4):397-404.
 93. Kotobuki Y, Tanemura A, Yang L, Itoi S, Wataya-Kaneda M, Murota H, et al. Dysregulation of melanocyte function by Th17-related cytokines: significance of Th17 cell infiltration in autoimmune vitiligo vulgaris. *Pigment Cell Melanoma Res.* mars 2012;25(2):219-30.
 94. Swope VB, Abdel-Malek Z, Kassem LM, Nordlund JJ. Interleukins 1 alpha and 6 and tumor necrosis factor-alpha are paracrine inhibitors of human melanocyte proliferation and melanogenesis. *J Invest Dermatol.* févr 1991;96(2):180-5.
 95. Moretti S, Spallanzani A, Amato L, Hautmann G, Gallerani I, Fabiani M, et al. New insights into the pathogenesis of vitiligo: imbalance of epidermal cytokines at sites of lesions. *Pigment Cell Res.* avr 2002;15(2):87-92.
 96. Elela MA, Hegazy RA, Fawzy MM, Rashed LA, Rasheed H. Interleukin 17, interleukin 22 and FoxP3 expression in tissue and serum of non-segmental vitiligo: a case- controlled study on eighty-four patients. *Eur J Dermatol EJD.* juin 2013;23(3):350-5.
 97. Vaccaro M, Cannavò SP, Imbesi S, Cristani M, Barbuzza O, Tigano V, et al. Increased serum levels of interleukin-23 circulating in patients with non-segmental generalized vitiligo. *Int J Dermatol.* juin 2015;54(6):672-4.
 98. Vaccaro M, Cicero F, Mannucci C, Calapai G, Spatari G, Barbuzza O, et al. IL-33 circulating serum levels are increased in patients with non-segmental generalized vitiligo. *Arch Dermatol Res.* sept 2016;308(7):527-30.
 99. Abdallah M, El-Mofty M, Anbar T, Rasheed H, Esmat S, Al-Tawdy A, et al. CXCL-10 and Interleukin-6 are reliable serum markers for vitiligo activity: A multicenter cross-sectional study. *Pigment Cell Melanoma Res.* mars 2018;31(2):330-6.
 100. Khan R, Gupta S, Sharma A. Circulatory levels of T-cell cytokines (interleukin [IL]-2, IL-4, IL-17, and transforming growth factor- β) in patients with vitiligo. *J Am Acad Dermatol.* mars 2012;66(3):510-1.
 101. Antonelli A, Ferrari SM, Fallahi P. The role of the Th1 chemokine CXCL10 in vitiligo. *Ann Transl Med.* mai 2015;3(Suppl 1):S16.
 102. Rashighi M, Agarwal P, Richmond JM, Harris TH, Dresser K, Su M-W, et al. CXCL10 is critical for the progression and maintenance of depigmentation in a mouse model of vitiligo. *Sci Transl Med.* 12 févr 2014;6(223):223ra23.
 103. Rezk AF, Kemp DM, El-Domyati M, El-Din WH, Lee JB, Uitto J, et al. Misbalanced CXCL12 and CCL5 Chemotactic Signals in Vitiligo Onset and Progression. *J Invest Dermatol.* mai 2017;137(5):1126-34.
 104. Li S, Zhu G, Yang Y, Jian Z, Guo S, Dai W, et al. Oxidative stress drives CD8(+) T-cell skin trafficking in patients with vitiligo through CXCL16 upregulation by activating the unfolded protein response in keratinocytes. *J Allergy Clin Immunol.* juill 2017;140(1):177-189.e9.

105. Dell'anna ML, Picardo M. A review and a new hypothesis for non-immunological pathogenetic mechanisms in vitiligo. *Pigment Cell Res.* oct 2006;19(5):406-11.
106. Boissy RE, Liu YY, Medrano EE, Nordlund JJ. Structural aberration of the rough endoplasmic reticulum and melanosome compartmentalization in long-term cultures of melanocytes from vitiligo patients. *J Invest Dermatol.* sept 1991;97(3):395-404.
107. Cario-André M, Pain C, Gauthier Y, Taïeb A. The melanocytorrhagic hypothesis of vitiligo tested on pigmented, stressed, reconstructed epidermis. *Pigment Cell Res.* oct 2007;20(5):385-93.
108. Bellei B, Pitisci A, Ottaviani M, Ludovici M, Cota C, Luzi F, et al. Vitiligo: a possible model of degenerative diseases. *PloS One.* 2013;8(3):e59782.
109. Regazzetti C, Joly F, Marty C, Rivier M, Mehul B, Reiniche P, et al. Transcriptional Analysis of Vitiligo Skin Reveals the Alteration of WNT Pathway: A Promising Target for Repigmenting Vitiligo Patients. *J Invest Dermatol.* déc 2015;135(12):3105-14.
110. Yamada T, Hasegawa S, Inoue Y, Date Y, Yamamoto N, Mizutani H, et al. Wnt/ β -Catenin and Kit Signaling Sequentially Regulate Melanocyte Stem Cell Differentiation in UVB-Induced Epidermal Pigmentation. *J Invest Dermatol.* 1 déc 2013;133(12):2753-62.
111. Wagner RY, Luciani F, Cario-André M, Rubod A, Petit V, Benzekri L, et al. Altered E-Cadherin Levels and Distribution in Melanocytes Precede Clinical Manifestations of Vitiligo. *J Invest Dermatol.* juill 2015;135(7):1810-9.
112. Reichert Faria A, Jung JE, Silva de Castro CC, de Noronha L. Reduced immunohistochemical expression of adhesion molecules in vitiligo skin biopsies. *Pathol Res Pract.* mars 2017;213(3):199-204.
113. Kovacs D, Bastonini E, Ottaviani M, Cota C, Migliano E, Dell'Anna ML, et al. Vitiligo Skin: Exploring the Dermal Compartment. *J Invest Dermatol.* 9 oct 2017;
114. Pelle E, Mammone T, Maes D, Frenkel K. Keratinocytes act as a source of reactive oxygen species by transferring hydrogen peroxide to melanocytes. *J Invest Dermatol.* avr 2005;124(4):793-7.
115. Aboul-Fettouh N, Hinojosa J, Tovar-Garza A, Pandya AG. The majority of patients presenting with vitiligo have a clinical sign of activity. *J Am Acad Dermatol.* 2017;77(4):774-5.
116. van Geel N, Speeckaert R, De Wolf J, Bracke S, Chevolet I, Brochez L, et al. Clinical significance of Koebner phenomenon in vitiligo. *Br J Dermatol.* nov 2012;167(5):1017-24.
117. Diallo A, Boniface K, Jouary T, Seneschal J, Morice-Picard F, Prey S, et al. Development and validation of the K-VSCOR for scoring Koebner's phenomenon in vitiligo/non-segmental vitiligo. *Pigment Cell Melanoma Res.* mai 2013;26(3):402-7.
118. Hann SK, Kim YS, Yoo JH, Chun YS. Clinical and histopathologic characteristics of trichrome vitiligo. *J Am Acad Dermatol.* avr 2000;42(4):589-96.
119. Sosa JJ, Currimbhoy SD, Ukoha U, Sirignano S, O'Leary R, Vandergriff T, et al. Confetti-like depigmentation: A potential sign of rapidly progressing vitiligo. *J Am Acad Dermatol.* août 2015;73(2):272-5.
120. Hamzavi I, Jain H, McLean D, Shapiro J, Zeng H, Lui H. Parametric modeling of narrowband UV-B phototherapy for vitiligo using a novel quantitative tool: the Vitiligo Area Scoring Index. *Arch Dermatol.* juin 2004;140(6):677-83.
121. Komen L, da Graça V, Wolkerstorfer A, de Rie MA, Terwee CB, van der Veen JPW. Vitiligo Area Scoring Index and Vitiligo European Task Force assessment: reliable and responsive instruments to measure the degree of depigmentation in vitiligo. *Br J Dermatol.* févr 2015;172(2):437-43.

122. van Geel N, Lommerts J, Bekkenk M, Wolkerstorfer A, Prinsen CAC, Eleftheriadou V, et al. Development and Validation of the Vitiligo Extent Score (VES): an International Collaborative Initiative. *J Invest Dermatol.* 2016;136(5):978-84.
123. van Geel N, Wolkerstorfer A, Lommerts JE, Ezzedine K, Eleftheriadou V, Hamzavi I, et al. Validation study of the Vitiligo Extent Score-plus (VESplus). *J Am Acad Dermatol.* 24 nov 2017;
124. Coias J, Hynan LS, Pandya AG. Lack of correlation of the patient derived vitiligo disease activity index (VIDA) with the clinician derived vitiligo activity severity index (VASI). *J Am Acad Dermatol.* 24 nov 2017;
125. Aydin F, Senturk N, Sahin B, Bek Y, Yuksel EP, Turanli AY. A practical method for the estimation of vitiligo surface area: a comparison between the point counting and digital planimetry techniques. *Eur J Dermatol EJD.* févr 2007;17(1):30-2.
126. Feily A. Vitiligo Extent Tensity Index (VETI) score: a new definition, assessment and treatment evaluation criteria in vitiligo. *Dermatol Pract Concept.* oct 2014;4(4):81-4.
127. van Geel N, Lommerts JE, Bekkenk MW, Prinsen CAC, Eleftheriadou V, Taieb A, et al. Development and validation of a patient-reported outcome measure in vitiligo: The Self Assessment Vitiligo Extent Score (SA-VES). *J Am Acad Dermatol.* mars 2017;76(3):464-71.
128. Komen L, van der Kraaij GE, van der Veen JPW, de Rie MA, Wolkerstorfer A. The validity, reliability and acceptability of the SAVASI; a new self-assessment score in vitiligo. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV.* nov 2015;29(11):2145-51.
129. Ezzedine K, Whitton M, Pinart M. Interventions for Vitiligo. *JAMA.* 25 oct 2016;316(16):1708-9.
130. Gan EY, Eleftheriadou V, Esmat S, Hamzavi I, Passeron T, Böhm M, et al. Repigmentation in vitiligo: position paper of the Vitiligo Global Issues Consensus Conference. *Pigment Cell Melanoma Res.* janv 2017;30(1):28-40.
131. Eleftheriadou V, Hamzavi I, Pandya A, Grimes P, Harris JE, Huggins RH, et al. International Initiative for outcomes (INFO) for vitiligo: Workshops with vitiligo patients on repigmentation. *Br J Dermatol.* 21 juill 2018;
132. Anbar TS, Hegazy RA, Picardo M, Taieb A. Beyond vitiligo guidelines: combined stratified/personalized approaches for the vitiligo patient. *Exp Dermatol.* avr 2014;23(4):219-23.
133. Jung H, Chung H, Chang SE, Kang D-H, Oh E-S. FK506 regulates pigmentation by maturing the melanosome and facilitating their transfer to keratinocytes. *Pigment Cell Melanoma Res.* mars 2016;29(2):199-209.
134. Jung H, Oh E-S. FK506 positively regulates the migratory potential of melanocyte-derived cells by enhancing syndecan-2 expression. *Pigment Cell Melanoma Res.* juill 2016;29(4):434-43.
135. Rustin MHA. The safety of tacrolimus ointment for the treatment of atopic dermatitis: a review. *Br J Dermatol.* nov 2007;157(5):861-73.
136. Sisti A, Sisti G, Oranges CM. Effectiveness and safety of topical tacrolimus monotherapy for repigmentation in vitiligo: a comprehensive literature review. *An Bras Dermatol.* avr 2016;91(2):187-95.
137. Cavalié M, Ezzedine K, Fontas E, Montaudié H, Castela E, Bahadoran P, et al. Maintenance therapy of adult vitiligo with 0.1% tacrolimus ointment: a randomized, double blind, placebo-controlled study. *J Invest Dermatol.* avr 2015;135(4):970-4.
138. Esmat S, Hegazy RA, Shalaby S, Chu-Sung Hu S, Lan C-CE. Phototherapy and Combination Therapies for Vitiligo. *Dermatol Clin.* avr 2017;35(2):171-92.

139. Mohammad TF, Al-Jamal M, Hamzavi IH, Harris JE, Leone G, Cabrera R, et al. The Vitiligo Working Group recommendations for narrowband ultraviolet B light phototherapy treatment of vitiligo. *J Am Acad Dermatol*. mai 2017;76(5):879-88.
140. Yones SS, Palmer RA, Garibaldinos TM, Hawk JLM. Randomized double-blind trial of treatment of vitiligo: efficacy of psoralen-UV-A therapy vs Narrowband-UV-B therapy. *Arch Dermatol*. mai 2007;143(5):578-84.
141. Anbar TS, Westerhof W, Abdel-Rahman AT, El-Khayyat MA. Evaluation of the effects of NB-UVB in both segmental and non-segmental vitiligo affecting different body sites. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. juin 2006;22(3):157-63.
142. Nicolaidou E, Antoniou C, Stratigos AJ, Stefanaki C, Katsambas AD. Efficacy, predictors of response, and long-term follow-up in patients with vitiligo treated with narrowband UVB phototherapy. *J Am Acad Dermatol*. févr 2007;56(2):274-8.
143. Pacifico A, Leone G. Photo(chemo)therapy for vitiligo. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. oct 2011;27(5):261-77.
144. Salah Eldin MM, Sami NA, Aly DG, Hanafy NS. Comparison Between (311-312 nm) Narrow Band Ultraviolet-B Phototherapy and (308 nm) Monochromatic Excimer Light Phototherapy in Treatment of Vitiligo: A Histopathological Study. *J Lasers Med Sci*. 2017;8(3):123-7.
145. Lommerts JE, Uitentuis SE, Bekkenk MW, de Rie MA, Wolkerstorfer A. The role of phototherapy in the surgical treatment of vitiligo: a systematic review. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV*. 24 mars 2018;
146. Singh H, Kumaran MS, Bains A, Parsad D. A Randomized Comparative Study of Oral Corticosteroid Minipulse and Low-Dose Oral Methotrexate in the Treatment of Unstable Vitiligo. *Dermatol Basel Switz*. 2015;231(3):286-90.
147. Parsad D, Gupta S. Standard guidelines of care for vitiligo surgery. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 1 janv 2008;74(7):37.
148. Mohammad TF, Hamzavi IH. Surgical Therapies for Vitiligo. *Dermatol Clin*. avr 2017;35(2):193-203.
149. Speeckaert R, Dugardin J, Lambert J, Lapeere H, Verhaeghe E, Speeckaert MM, et al. Critical appraisal of the oxidative stress pathway in vitiligo: a systematic review and meta-analysis. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV*. 17 janv 2018;
150. Craiglow BG, King BA. Tofacitinib Citrate for the Treatment of Vitiligo: A Pathogenesis-Directed Therapy. *JAMA Dermatol*. oct 2015;151(10):1110-2.
151. Harris JE, Rashighi M, Nguyen N, Jabbari A, Ulerio G, Clynes R, et al. Rapid skin repigmentation on oral ruxolitinib in a patient with coexistent vitiligo and alopecia areata (AA). *J Am Acad Dermatol*. févr 2016;74(2):370-1.
152. Rothstein B, Joshipura D, Saraiya A, Abdat R, Ashkar H, Turkowski Y, et al. Treatment of vitiligo with the topical Janus kinase inhibitor ruxolitinib. *J Am Acad Dermatol*. juin 2017;76(6):1054-1060.e1.
153. Joshipura D, Alomran A, Zancanaro P, Rosmarin D. Treatment of vitiligo with the topical Janus kinase inhibitor ruxolitinib: a 32-week open label extension study with optional narrow-band ultraviolet B. *J Am Acad Dermatol*. 10 févr 2018;
154. Liu LY, Strassner JP, Refat MA, Harris JE, King BA. Repigmentation in vitiligo using the Janus kinase inhibitor tofacitinib may require concomitant light exposure. *J Am Acad Dermatol*. oct 2017;77(4):675-682.e1.
155. Joshipura D, Plotnikova N, Goldminz A, Deverapalli S, Turkowski Y, Gottlieb A, et al. Importance of light in the treatment of vitiligo with JAK-inhibitors. *J Dermatol Treat*. févr 2018;29(1):98-9.

156. Agarwal P, Rashighi M, Essien KI, Richmond JM, Randall L, Pazoki-Toroudi H, et al. Simvastatin prevents and reverses depigmentation in a mouse model of vitiligo. *J Invest Dermatol.* avr 2015;135(4):1080-8.
157. Vanderweil SG, Amano S, Ko W-C, Richmond JM, Kelley M, Senna MM, et al. A double-blind, placebo-controlled, phase-II clinical trial to evaluate oral simvastatin as a treatment for vitiligo. *J Am Acad Dermatol.* 1 janv 2017;76(1):150-151.e3.
158. Nguyen S, Chuah SY, Fontas E, Khemis A, Jhingan A, Thng STG, et al. Atorvastatin in Combination With Narrowband UV-B in Adult Patients With Active Vitiligo: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Dermatol.* 4 avr 2018;
159. Schwartz DM, Bonelli M, Gadina M, O'Shea JJ. Type I/II cytokines, JAKs, and new strategies for treating autoimmune diseases. *Nat Rev Rheumatol.* janv 2016;12(1):25-36.
160. Rashighi M, Harris JE. Interfering with the IFN- γ /CXCL10 pathway to develop new targeted treatments for vitiligo. *Ann Transl Med [Internet].* déc 2015 [cité 27 déc 2017];3(21). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4690998/>
161. Mosenson JA, Zloza A, Nieland JD, Garrett-Mayer E, Eby JM, Huelsmann EJ, et al. Mutant HSP70 reverses autoimmune depigmentation in vitiligo. *Sci Transl Med.* 27 févr 2013;5(174):174ra28.
162. Bassiouny DA, Shaker O. Role of interleukin-17 in the pathogenesis of vitiligo. *Clin Exp Dermatol.* avr 2011;36(3):292-7.
163. Bunker CB, Manson J. Vitiligo remitting with tocilizumab. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV.* 10 juin 2018;
164. Webb KC, Tung R, Winterfield LS, Gottlieb AB, Eby JM, Henning SW, et al. Tumour necrosis factor- α inhibition can stabilize disease in progressive vitiligo. *Br J Dermatol.* sept 2015;173(3):641-50.
165. Bae JM, Kim M, Lee HH, Kim K-J, Shin H, Ju HJ, et al. Increased Risk of Vitiligo Following Anti-Tumor Necrosis Factor Therapy: A 10-Year Population-Based Cohort Study. *J Invest Dermatol.* 23 nov 2017;
166. Speeckaert R, van Geel N. Targeting CTLA-4, PD-L1 and IDO to modulate immune responses in vitiligo. *Exp Dermatol.* juill 2017;26(7):630-4.
167. Korobko IV, Lomonosov KM. A pilot comparative study of topical latanoprost and tacrolimus in combination with narrow-band ultraviolet B phototherapy and microneedling for the treatment of nonsegmental vitiligo. *Dermatol Ther.* nov 2016;29(6):437-41.
168. Lim HW, Grimes PE, Agbai O, Hamzavi I, Henderson M, Haddican M, et al. Afamelanotide and narrowband UV-B phototherapy for the treatment of vitiligo: a randomized multicenter trial. *JAMA Dermatol.* janv 2015;151(1):42-50.
169. Passeron T. Indications and limitations of afamelanotide for treating vitiligo. *JAMA Dermatol.* mars 2015;151(3):349-50.
170. Sushama S, Dixit N, Gautam RK, Arora P, Khurana A, Anubhuti A. Cytokine profile (IL-2, IL-6, IL-17, IL-22, and TNF- α) in vitiligo-New insight into pathogenesis of disease. *J Cosmet Dermatol.* 4 mars 2018;
171. Laddha NC, Dwivedi M, Begum R. Increased Tumor Necrosis Factor (TNF)- α and its promoter polymorphisms correlate with disease progression and higher susceptibility towards vitiligo. *PloS One.* 20 déc 2012;7(12):e52298.
172. Aydıngöz IE, Kanmaz-Özer M, Gedikbaşı A, Vural P, Doğru-Abbasoğlu S, Uysal M. The combination of tumour necrosis factor- α -308A and interleukin-10 -1082G gene polymorphisms and increased serum levels of related cytokines: susceptibility to vitiligo. *Clin Exp Dermatol.* janv 2015;40(1):71-7.

173. Praharsini I, Indira IE, Suryawati N, Indira IE, Sanjiwani SP. High level of tumor necrosis alpha and serum interferon gamma as risk factors for progression of vitiligo disease. *Int J Health Sci IJHS*. 23 avr 2018;2(2):1-8.
174. Singh S, Singh U, Pandey SS. Serum concentration of IL-6, IL-2, TNF- α , and IFN γ in Vitiligo patients. *Indian J Dermatol*. janv 2012;57(1):12-4.
175. Dwivedi M, Laddha NC, Shah K, Shah BJ, Begum R. Involvement of interferon-gamma genetic variants and intercellular adhesion molecule-1 in onset and progression of generalized vitiligo. *J Interferon Cytokine Res Off J Int Soc Interferon Cytokine Res*. nov 2013;33(11):646-59.
176. Ala Y, Pasha MK, Rao RN, Komaravalli PL, Jahan P. Association of IFN- γ : IL-10 Cytokine Ratio with Nonsegmental Vitiligo Pathogenesis. *Autoimmune Dis*. 2015;2015:423490.
177. Tembhre MK, Sharma VK, Sharma A, Chattopadhyay P, Gupta S. T helper and regulatory T cell cytokine profile in active, stable and narrow band ultraviolet B treated generalized vitiligo. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 23 sept 2013;424:27-32.
178. Laddha NC, Dwivedi M, Mansuri MS, Singh M, Patel HH, Agarwal N, et al. Association of neuropeptide Y (NPY), interleukin-1B (IL1B) genetic variants and correlation of IL1B transcript levels with vitiligo susceptibility. *PloS One*. 2014;9(9):e107020.
179. Tu CX, Gu JS, Lin XR. Increased interleukin-6 and granulocyte-macrophage colony stimulating factor levels in the sera of patients with non-segmental vitiligo. *J Dermatol Sci*. févr 2003;31(1):73-8.
180. Basak PY, Adiloglu AK, Ceyhan AM, Tas T, Akkaya VB. The role of helper and regulatory T cells in the pathogenesis of vitiligo. *J Am Acad Dermatol*. févr 2009;60(2):256-60.
181. Dong J, An X, Zhong H, Wang Y, Shang J, Zhou J. Interleukin-22 participates in the inflammatory process of vitiligo. *Oncotarget*. 12 déc 2017;8(65):109161-74.
182. Ma L, Xue H-B, Guan X-H, Shu C-M, Zhang Y-J, Zhang J-H, et al. Relationship of macrophage migration inhibitory factor levels in PBMCs, lesional skin and serum with disease severity and activity in vitiligo vulgaris. *Braz J Med Biol Res*. 28 mai 2013;46(5):460-4.
183. Serarslan G, Yönden Z, Söğüt S, Savaş N, Celik E, Arpacı A. Macrophage migration inhibitory factor in patients with vitiligo and relationship between duration and clinical type of disease. *Clin Exp Dermatol*. juill 2010;35(5):487-90.
184. Yeo UC, Yang YS, Park KB, Sung HT, Jung SY, Lee ES, et al. Serum concentration of the soluble interleukin-2 receptor in vitiligo patients. *J Dermatol Sci*. avr 1999;19(3):182-8.
185. Wang XX, Wang QQ, Wu JQ, Jiang M, Chen L, Zhang CF, et al. Increased expression of CXCR3 and its ligands in patients with vitiligo and CXCL10 as a potential clinical marker for vitiligo. *Br J Dermatol*. juin 2016;174(6):1318-26.
186. Maouia A, Sormani L, Youssef M, Helal AN, Kassab A, Passeron T. Differential expression of CXCL9, CXCL10, and IFN- γ in vitiligo and alopecia areata patients. *Pigment Cell Melanoma Res*. mars 2017;30(2):259-61.
187. Strassner JP, Rashighi M, Ahmed Refat M, Richmond JM, Harris JE. Suction blistering the lesional skin of vitiligo patients reveals useful biomarkers of disease activity. *J Am Acad Dermatol*. mai 2017;76(5):847-855.e5.
188. Speckaert R, Ongenae K, van Geel N. Alterations of CXCL12 in Serum of Patients with Vitiligo. *J Invest Dermatol*. juill 2017;137(7):1586-8.

189. Zhang S, Liu S, Yu N, Xiang L. RNA released from necrotic keratinocytes upregulates intercellular adhesion molecule-1 expression in melanocytes. *Arch Dermatol Res.* déc 2011;303(10):771-6.
190. Lee E, Choi S-Y, Bin B-H, Kim N-H, Kim KH, Choi D-H, et al. Interferon-inducible T-cell alpha chemoattractant (ITAC) induces the melanocytic migration and hypopigmentation through destabilizing p53 via histone deacetylase 5: a possible role of ITAC in pigment-related disorders. *Br J Dermatol.* janv 2017;176(1):127-37.
191. Meuwis M-A, Fillet M, Geurts P, de Seny D, Lutteri L, Chapelle J-P, et al. Biomarker discovery for inflammatory bowel disease, using proteomic serum profiling. *Biochem Pharmacol.* 1 mai 2007;73(9):1422-33.
192. van Bon L, Affandi AJ, Broen J, Christmann RB, Marijnissen RJ, Stawski L, et al. Proteome-wide analysis and CXCL4 as a biomarker in systemic sclerosis. *N Engl J Med.* 30 janv 2014;370(5):433-43.
193. Honda Y, Okubo Y, Koga M. Relationship between levels of soluble interleukin-2 receptors and the types and activity of vitiligo. *J Dermatol.* sept 1997;24(9):561-3.
194. Caixia T, Hongwen F, Xiran L. Levels of soluble interleukin-2 receptor in the sera and skin tissue fluids of patients with vitiligo. *J Dermatol Sci.* sept 1999;21(1):59-62.
195. Shi Y-L, Li K, Hamzavi I, Lim HW, Zhou L, Mi Q-S. Elevated circulating soluble interleukin-2 receptor in patients with non-segmental vitiligo in North American. *J Dermatol Sci.* sept 2013;71(3):212-4.
196. Speeckaert R, Lambert J, van Geel N. Clinical Significance of Serum Soluble CD Molecules to Assess Disease Activity in Vitiligo. *JAMA Dermatol.* 1 nov 2016;152(11):1194-200.
197. Franczuk A, Szepietowski JC, Noworolska A. Serum concentrations of interleukin-2 soluble receptor (IL-2 sR) in patients with vitiligo: relationship with type and extent of the disease. *Acta Dermatovenerol Croat ADC.* 2004;12(2):71-6.
198. Huang J, Jochems C, Anderson AM, Talaie T, Jales A, Madan RA, et al. Soluble CD27-pool in humans may contribute to T cell activation and tumor immunity. *J Immunol Baltim Md 1950.* 15 juin 2013;190(12):6250-8.
199. Harning R, Cui J, Bystryń JC. Relation between the incidence and level of pigment cell antibodies and disease activity in vitiligo. *J Invest Dermatol.* déc 1991;97(6):1078-80.
200. Kroon MW, Kemp EH, Wind BS, Krebbers G, Bos JD, Gawkrödger DJ, et al. Melanocyte antigen-specific antibodies cannot be used as markers for recent disease activity in patients with vitiligo. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV.* sept 2013;27(9):1172-5.
201. Cui J, Arita Y, Bystryń JC. Cytolytic antibodies to melanocytes in vitiligo. *J Invest Dermatol.* juin 1993;100(6):812-5.
202. Yu HS, Kao CH, Yu CL. Coexistence and relationship of antikeratinocyte and antimelanocyte antibodies in patients with non-segmental-type vitiligo. *J Invest Dermatol.* juin 1993;100(6):823-8.
203. Jimenez-Brito G, Garza-de-La-Peña E, Pérez-Romano B, Ruiz-Argüelles A. Serum Antibodies to Melanocytes in Patients With Vitiligo Are Predictors of Disease Progression. *Skinmed.* 2016;14(1):17-21.
204. Kemp EH, Emhemad S, Akhtar S, Watson PF, Gawkrödger DJ, Weetman AP. Autoantibodies against tyrosine hydroxylase in patients with non-segmental (generalised) vitiligo. *Exp Dermatol.* janv 2011;20(1):35-40.
205. Colucci R, Lotti F, Dragoni F, Arunachalam M, Lotti T, Benvenga S, et al. High prevalence of circulating autoantibodies against thyroid hormones in vitiligo and correlation with clinical and historical parameters of patients. *Br J Dermatol.* oct 2014;171(4):786-98.

206. Doss RW, El-Rifaie A-AA, Abdel-Wahab AM, Gohary YM, Rashed LA. Heat Shock Protein-70 Expression in Vitiligo and its Relation to the Disease Activity. *Indian J Dermatol.* 2016;61(4):408-12.
207. Jacquemin C, Rambert J, Guillet S, Thiolat D, Boukhedouni N, Doutre M-S, et al. Heat shock protein 70 potentiates interferon alpha production by plasmacytoid dendritic cells: relevance for cutaneous lupus and vitiligo pathogenesis. *Br J Dermatol.* nov 2017;177(5):1367-75.
208. Kim NH, Torchia D, Rouhani P, Roberts B, Romanelli P. Tumor necrosis factor- α in vitiligo: direct correlation between tissue levels and clinical parameters. *Cutan Ocul Toxicol.* sept 2011;30(3):225-7.
209. Marie J, Kovacs D, Pain C, Jouary T, Cota C, Vergier B, et al. Inflammasome activation and vitiligo/nonsegmental vitiligo progression. *Br J Dermatol.* avr 2014;170(4):816-23.
210. Kidir M, Karabulut AA, Ercin ME, Atasoy P. Regulatory T-cell cytokines in patients with nonsegmental vitiligo. *Int J Dermatol.* mai 2017;56(5):581-8.
211. Richmond JM, Bangari DS, Essien KI, Currimbhoy SD, Groom JR, Pandya AG, et al. Keratinocyte-Derived Chemokines Orchestrate T-Cell Positioning in the Epidermis during Vitiligo and May Serve as Biomarkers of Disease. *J Invest Dermatol.* févr 2017;137(2):350-8.
212. Strassner JP, Rashighi M, Ahmed Refat M, Richmond JM, Harris JE. Suction blistering the lesional skin of vitiligo patients reveals useful biomarkers of disease activity. *J Am Acad Dermatol.* mai 2017;76(5):847-855.e5.
213. Yang L, Yang S, Lei J, Hu W, Chen R, Lin F, et al. Role of chemokines and the corresponding receptors in vitiligo: A pilot study. *J Dermatol.* janv 2018;45(1):31-8.
214. Thijs JL, Nierkens S, Herath A, Bruijnzeel-Koomen C a. F, Knol EF, Giovannone B, et al. A panel of biomarkers for disease severity in atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol.* mars 2015;45(3):698-701.
215. Ungar B, Garcet S, Gonzalez J, Dhingra N, Correa da Rosa J, Shemer A, et al. An Integrated Model of Atopic Dermatitis Biomarkers Highlights the Systemic Nature of the Disease. *J Invest Dermatol.* 2017;137(3):603-13.
216. Harris JE, Harris TH, Weninger W, Wherry EJ, Hunter CA, Turka LA. A mouse model of vitiligo with focused epidermal depigmentation requires IFN- γ for autoreactive CD8⁺ T-cell accumulation in the skin. *J Invest Dermatol.* juill 2012;132(7):1869-76.
217. Liew FY, Pitman NI, McInnes IB. Disease-associated functions of IL-33: the new kid in the IL-1 family. *Nat Rev Immunol.* févr 2010;10(2):103-10.
218. Li P, Ma H, Han D, Mou K. Interleukin-33 affects cytokine production by keratinocytes in vitiligo. *Clin Exp Dermatol.* mars 2015;40(2):163-70.
219. Vaccaro M, Cannavò SP, Imbesi S, Cristani M, Barbuzza O, Tigano V, et al. Increased serum levels of interleukin-23 circulating in patients with non-segmental generalized vitiligo. *Int J Dermatol.* juin 2015;54(6):672-4.
220. Duvallet E, Semerano L, Assier E, Falgarone G, Boissier M-C. Interleukin-23: a key cytokine in inflammatory diseases. *Ann Med.* nov 2011;43(7):503-11.
221. Adachi T, Kobayashi T, Sugihara E, Yamada T, Ikuta K, Pittaluga S, et al. Hair follicle-derived IL-7 and IL-15 mediate skin-resident memory T cell homeostasis and lymphoma. *Nat Med.* nov 2015;21(11):1272-9.
222. Wu H, Liao W, Li Q, Long H, Yin H, Zhao M, et al. Pathogenic role of tissue-resident memory T cells in autoimmune diseases. *Autoimmun Rev.* 10 juill 2018;
223. Richmond JM, Strassner JP, Zapata L, Garg M, Riding RL, Refat MA, et al. Antibody blockade of IL-15 signaling has the potential to durably reverse vitiligo. *Sci Transl Med.* 18 juill 2018;10(450).

224. Yang Y, Li S, Zhu G, Zhang Q, Wang G, Gao T, et al. A similar local immune and oxidative stress phenotype in vitiligo and halo nevus. *J Dermatol Sci.* juill 2017;87(1):50-9.
225. Kumar R, Parsad D, Kanwar AJ. Role of apoptosis and melanocytorrhagy: a comparative study of melanocyte adhesion in stable and unstable vitiligo. *Br J Dermatol.* janv 2011;164(1):187-91.
226. Elkady A, Bonomo L, Amir Y, Vekaria AS, Guttman-Yassky E. Effective use of ustekinumab in a patient with concomitant psoriasis, vitiligo, and alopecia areata. *JAAD Case Rep.* nov 2017;3(6):477-9.
227. Lee JH, Cho DH, Park HJ. IL-18 and Cutaneous Inflammatory Diseases. *Int J Mol Sci.* 9 déc 2015;16(12):29357-69.
228. Mende R, Vincent FB, Kandane-Rathnayake R, Koelmeyer R, Lin E, Chang J, et al. Analysis of Serum Interleukin (IL)-1 β and IL-18 in Systemic Lupus Erythematosus. *Front Immunol.* 2018;9:1250.
229. Ha H, Debnath B, Neamati N. Role of the CXCL8-CXCR1/2 Axis in Cancer and Inflammatory Diseases. *Theranostics.* 2017;7(6):1543-88.
230. Lamkanfi M, Vande Walle L, Kanneganti T-D. Deregulated inflammasome signaling in disease. *Immunol Rev.* sept 2011;243(1):163-73.
231. Wang CQF, Cruz-Inigo AE, Fuentes-Duculan J, Moussai D, Gulati N, Sullivan-Whalen M, et al. Th17 cells and activated dendritic cells are increased in vitiligo lesions. *PloS One.* 25 avr 2011;6(4):e18907.
232. Reich K, Papp KA, Matheson RT, Tu JH, Bissonnette R, Bourcier M, et al. Evidence that a neutrophil-keratinocyte crosstalk is an early target of IL-17A inhibition in psoriasis. *Exp Dermatol.* juill 2015;24(7):529-35.
233. Karin N, Wildbaum G. The Role of Chemokines in Shaping the Balance Between CD4(+) T Cell Subsets and Its Therapeutic Implications in Autoimmune and Cancer Diseases. *Front Immunol.* 2015;6:609.
234. Wang A, Fairhurst A-M, Tus K, Subramanian S, Liu Y, Lin F, et al. CXCR4/CXCL12 hyperexpression plays a pivotal role in the pathogenesis of lupus. *J Immunol Baltim Md 1950.* 1 avr 2009;182(7):4448-58.
235. Zraggen S, Huggenberger R, Kerl K, Detmar M. An important role of the SDF-1/CXCR4 axis in chronic skin inflammation. *PloS One.* 2014;9(4):e93665.

Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque.

IDENTIFICATION DE BIOMARQUEURS SÉRIQUES DANS LE VITILIGO

Introduction :

Le vitiligo est maladie inflammatoire chronique dépigmentante faisant intervenir de multiples acteurs biologiques à des stades et à des degrés variables de sa physiopathologie. L'identification de biomarqueurs sériques dans le vitiligo apparaît majeure pour identifier les patients avec une maladie stable ou progressive et suivre cette activité avant et après traitement. Les résultats des travaux antérieurs apparaissent souvent contradictoires et ont principalement intéressé l'étude de marqueurs isolés ou en faible nombre.

Matériel et méthodes :

Nous avons mené une étude monocentrique d'avril 2013 à avril 2018 au CHU de Bordeaux incluant rétrospectivement 41 patients adultes atteints de vitiligo non segmentaire sans traitement depuis au moins 3 mois, répartis en 2 groupes selon le score de progression 'spreading' du questionnaire VETF (Vitiligo European Task Force), actif (spreading score $\geq +3$) ou stable (spreading score 0 ou +1) et 19 sujets sains contrôles. L'objectif était d'évaluer simultanément un panel de marqueurs sériques dans le vitiligo et de rechercher les biomarqueurs dérégulés chez les patients en comparaison aux sujets sains ainsi que ceux associés à l'activité du vitiligo (patients stables versus progressifs). Des corrélations entre certains biomarqueurs et paramètres cliniques étaient aussi réalisées. Les caractéristiques démographiques et cliniques étaient recueillies grâce au questionnaire VETF. L'expression sérique de 38 facteurs solubles en lien avec l'inflammation était dosée par technique ELISA et comparée dans les populations de patients stables, progressifs et sains.

Résultats :

Parmi les 41 patients, 23 avaient un vitiligo progressif (56.1%) et 18 (43.9%) un vitiligo stable. Nous avons observé une augmentation de biomarqueurs en lien avec l'immunité innée (IL-6), Th1-Tc1 (IFN- γ , IL-12, CXCL10, CXCL11, perforine), Th17 (IL-17, IL-23), Th2 (IL-33), T régulatrice (IL-10) et T mémoire (IL-15) ($p < 0.05$) chez les patients atteints de vitiligo par rapport aux sujets contrôles. Si plusieurs de ces facteurs augmentaient à la fois chez les patients stables et progressifs (IL-6, CXCL10, CXCL11, IL-33, IL-23, IL-10, IL-15, perforine), certains augmentaient toutefois préférentiellement chez les patients stables (IL-6, IL-23), tandis que d'autres n'augmentaient significativement que dans le groupe stable (IFN- γ , IL-12, IL-17) avec des taux non différents entre les sujets progressifs et contrôles. Les taux de CXCL12, CXCL8 et d'IL-18 diminuaient chez les patients, notamment progressifs. Une corrélation positive de l'IFN- γ , et négative de CXCL10, avec plusieurs marqueurs pro- et anti-inflammatoires était retrouvée. CXCL10 et la perforine corrélaient positivement à la durée d'évolution du vitiligo.

Discussion :

Nos patients présentaient une élévation des taux sériques de biomarqueurs Th1-Tc1 /Th17 /Th2 /T régulateur et T mémoire dont l'expression préférentielle pour certains chez les patients stables suggère un profil inflammatoire persistant chez les sujets cliniquement stables, peut-être à l'origine des poussées ultérieures. La corrélation positive de plusieurs de ces marqueurs avec l'IFN- γ , et négative avec CXCL10, suggère l'existence d'un profil de cinétique distinct entre l'expression de certaines cytokines et chémokines. Parmi les 38 facteurs solubles étudiés, le CXCL10 et l'IL-15 apparaissent être deux biomarqueurs intéressants de l'activité de la maladie.

Conclusion :

Ces données constituent une base critique pour l'étude des modifications des profils immunitaires chez les adultes atteints de vitiligo, qu'il faudra confirmer sur un plus grand nombre de patients, et permettent d'envisager des thérapies ciblées améliorant la prise en charge future.