



Disponible en ligne sur
 ScienceDirect
 www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

 www.em-consulte.com



ÉDITORIAL

Vers une évaluation *in vivo*, en temps réel, de la réparation pulmonaire dans le SDRA : une place pour la micro-imagerie de fluorescence par laser confocal ?

In vivo and real time imaging of lung tissue remodeling during ARDS: A place for fibered confocal fluorescence microscopy

MOTS CLÉS

SDRA ;
 Réparation alvéolaire ;
 Microscopie confocale par fluorescence

KEYWORDS

ARDS;
 Lung remodeling;
 Confocal fluorescence microscopy

Introduction

Il y a un peu plus de trois ans, Claude Guérin et Jean-Christophe Richard signaient un éditorial sur l'imagerie de la ventilation [1], relatant les nouvelles approches en médecine nucléaire (SPECT, PET), en résonance magnétique (IRM) et en tomographie en émission d'impédance électrique (TEIT). Si l'imagerie fonctionnelle connaît des progrès significatifs, une nouvelle imagerie cellulaire et moléculaire du poumon est désormais à nos portes, une imagerie révolutionnaire de très haute résolution et qui pourrait, à l'avenir, fournir au réanimateur de nouveaux outils pour juger si le poumon est en phase de réparation ou non – sans biopsie – et si de nouvelles interventions thérapeutiques doivent être envisagées.

Le développement de nouvelles techniques d'imagerie pulmonaire, applicables au chevet du patient intubé, ventilé et porteur d'un dommage pulmonaire majeur de type SDRA, a d'ailleurs fait l'objet d'une recommandation de l'American Thoracic Society (ATS) en 2007, «utilizing imaging modalities to investigate intracellular lung pathophysiology *in vivo* and *in real time*»[2].

Plus d'un tiers des SDRA ne démontrent aucun signe d'amélioration après sept à dix jours de support ventilatoire, et un certain nombre d'entre eux ont manifestement un défaut de réparation tissulaire postagression et sont à risque de développer une fibrose pulmonaire avec des séquelles fonctionnelles ou une superinfection pulmonaire avec ses conséquences pronostiques [3,4]. Papazian et al. [5] ont décrit l'intérêt diagnostique et l'innocuité relative d'une approche «invasive» biopsique du poumon dans ce contexte. Cependant, la possibilité d'utiliser une technique de micro-imagerie non ou moins invasive est à considérer.

La micro-imagerie cellulaire et moléculaire *in vivo* par laser confocal de fluorescence (imagerie de fluorescence temps réel)

Cette technologie est en pleine expansion. Elle peut être divisée en deux sous-catégories permettant l'acquisition d'une information similaire : l'approche endobronchique et l'approche transthoracique. Parmi toutes les technologies disponibles en progression, deux compagnies ont développé des systèmes d'endomicroscopie *in vivo* applicables au

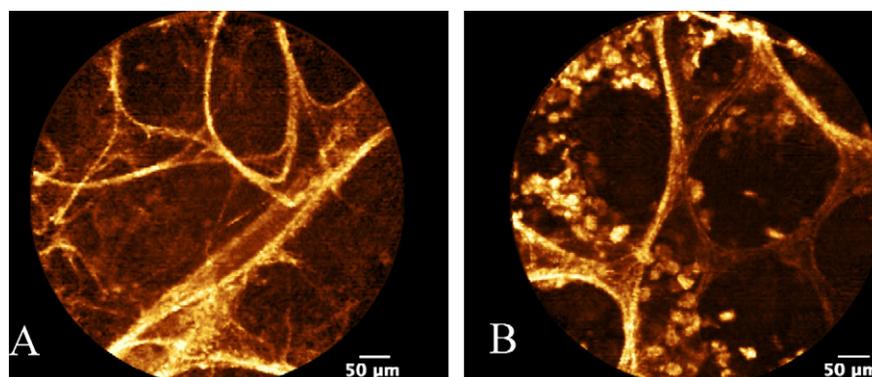


Figure 1 Vue microendoscopique («alvéoscopie»), à l'aide du Cellvizio®, des espaces aériens distaux d'un poumon humain. A. Poumon normal. B. Poumon inflammatoire avec nombreux macrophages intra-alvéolaires.

poumon : Mauna Kea (France) et Optiscan (Australia). Les deux systèmes sont équipés de fibres pour l'étude de fluorescence confocale.

Mauna Kea a choisi l'approche endobronchique avec le Cellvizio® et introduit le terme d'«alvéoscopie», car les microfibrilles optiques – d'une taille de 350 à 1800 µm – introduites par le canal de travail (ou d'aspiration) d'un endofibroscope flexible bronchique permettent d'atteindre et de visionner les espaces alvéolaires. Le temps d'acquisition des images est très rapide (12 images par seconde), permettant de monter des séquences vidéo [6,7]. L'observation est basée sur l'auto fluorescence (ou fluorescence endogène) des tissus pulmonaires et donc essentiellement sur la composante élastine de la membrane basale comme source d'émission. La résolution spatiale latérale est de 3,5 microns, avec un champ de vision de 600 µm permettant de visualiser à l'échelle cellulaire les microstructures avoisinantes.

Optiscan a choisi deux configurations : un endoscope flexible équipé du système de fluorescence confocale intégré, mais pour l'usage clinique du tube digestif (commercialisé par Pentax®) et un système, le Five1®, contenant le confocal et l'optique intégrés dans une sonde rigide de 6 mm de diamètre pour les applications de recherche et de développement. Avec le Five1®, une approche transthoracique et une application directe sur la plèvre viscérale (par exemple, par un drain thoracique) sont requises, ainsi qu'un bras de stabilisation articulé ; équipé d'un anneau de pression négative, afin de «sécuriser» l'interface laser–poumon [8]. Les résolutions axiale et latérale sont de 7 et 0,7 µm, respectivement. Le temps d'acquisition est de (0,7 à 1,4 images par seconde), avec possibilité de montage vidéo de séquences d'images *post hoc*. Un des avantages du système Five1® est sa capacité d'imagerie trans-tissulaire avec une profondeur de champs ajustable comme un microscope confocal, et le plan focal peut se modifier sur une échelle de 250 µm – de la surface à la profondeur ou réciproquement – permettant de visionner des détails structuraux d'aspect tridimensionnel. L'auto fluorescence n'est pas – ou peu – détectée par le Five1® selon l'animal étudié, et l'usage d'un agent fluorophore ou d'un marqueur moléculaire fluorescent (dans le canal d'émission de la fluorescéine, c'est-à-dire pour

une longueur d'onde d'excitation de 488 nm) est souvent nécessaire.

Avantages, futures directions et limites de l'imagerie de fluorescence in vivo en temps réel

Avantages

Cette nouvelle technologie d'imagerie offre des avantages indéniables en comparaison avec les méthodes radionucléaires :

- la résolution des images est exceptionnelle, à l'échelle cellulaire et même moléculaire, se comparant à un microscope de haute définition... mais sur un tissu pulmonaire « vivant » et non fixé (Fig. 1 et 2), la visualisation structurale pouvant se rapprocher de celle de la microscopie électronique de balayage sous certains angles ;
- le potentiel d'utilisation et de validation de marqueurs spécifiques de la réparation pulmonaire, tels que des marqueurs épithéliaux, des cellules inflammatoires ou des fibroblastes (fibrose), ou des marqueurs fonctionnels ou moléculaires (par exemple, d'apoptose, de nécrose, d'activation de kinases cellulaires), ajoute une plus-value essentielle à l'échelle de la molécule ;
- le caractère « minimalement invasif » de la technique d'approche d'imagerie confocale en comparaison à celle de la biopsie pulmonaire est claire.

Futures directions

Les futures directions imposent de démontrer une faisabilité et une applicabilité pratique au chevet chez des patients ventilés avec SDRA, qu'un algorithme d'évaluation du poumon atteint, validé par la micro-imagerie (avec ou sans marqueurs spécifiques), informe concrètement le clinicien sur « l'état des lieux » et lui permette de décider de changements thérapeutiques, et que cette évaluation soit répétable de façon sécuritaire et efficace afin de juger des impacts du changement de stratégie thérapeutique éventuellement opéré.

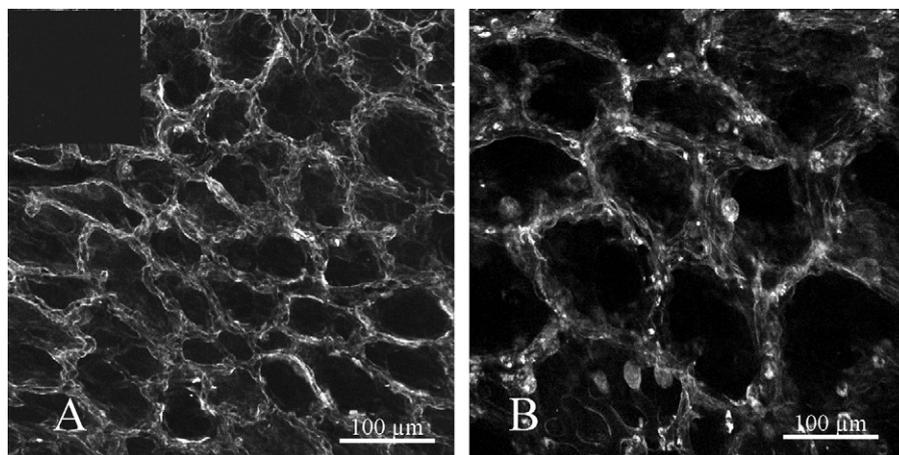


Figure 2 Vue intravitale transthoracique, à l'aide du Five 1[®], des espaces aériens distaux d'un poumon de rat. A. Marquage avec une agglutinine antilectine *Ricinus Communis* des membranes alvéolaires épithéliales, avec contraste nucléaire par Acridine orange (poumon normal); B. Idem (poumon instillé à la Bléomycine après deux semaines). En mortaise, en haut à gauche, est présentée une image de poumon normal avant injection d'agglutinine fluorescente (bruit de fonds d'auto fluorescence).

Limites

Les limites sont celles du caractère « relativement invasif » de l'approche de micro-imagerie (Cellvizio[®] a un avantage indéniable sur le Five 1[®] par son abord endoscopique), du choix de marqueurs et traceurs non toxiques/délétères pour les patients (anticorps, séquences peptidiques, etc.) et de la valeur prédictive du score algorithmique d'atteinte pulmonaire qui a le potentiel d'être établi (à valider).

Grâce à l'endomicroscopie in vivo, l'étude du poumon agressé en réparation entre dans une nouvelle ère, avec un potentiel d'informations essentielles pour le réanimateur au chevet et de bénéfices pour les patients atteints de pathologie infiltrante diffuse et peut-être à l'avenir des SDRA.

Conflit d'intérêt

Luc Thiberville est co-auteur d'un brevet relatif à l'utilisation de l'endomicroscopie fibrée en fluorescence pour l'exploration des territoires alvéolaires pulmonaires.

Remerciements

La compagnie Optiscan Pty Ltd pour le matériel Five 1[®].

Références

- [1] Guérin C, Richard JC. Imagerie de la ventilation (éditorial). *Réanimation* 2005;14:68–9.
- [2] Brown RH, Irvin CG, Allen III GB, Shapiro SD, Martin WJ, Kolb MRJ, et al. An official ATS conference proceedings: advances in

small-animal imaging application to lung pathophysiology. *Proc Am Thorac Soc* 2008;5:591–600.

- [3] Ingbar DH. Mechanisms of repair and remodeling following acute lung injury. *Clin Chest Med* 2000;21:589–616.
- [4] Berthiaume Y, Lesur O, Dagenais A. Treatment of the adult respiratory syndrome: plea for rescue therapy of the alveolar epithelium. *Thorax* 1999;54:150–60.
- [5] Donati SY, Papazian L. Role of open-lung biopsy in acute respiratory distress syndrome. *Curr Opin Crit Care* 2008;14:75–9.
- [6] Thiberville L, Moreno-Swirc S, Vercauteren T, Peltier E, Cavé C, Bourg Heckly G. In vivo imaging of the bronchial wall microstructure using fibered confocal fluorescence microscopy. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175:22–31.
- [7] Thiberville L, Salaün M, Lachkar S, Dominique S, Moreno-Swirc S, Vever-Bizet C et al. Human in vivo fluorescence microimaging of the alveolar ducts and sacs during bronchoscopy. *Eur Respir J* [in press].
- [8] Fournier C, Moleski L, Charrette PG, Chagnon F, Lesur O. Towards in vivo imaging of lung repair: current issues and future directions. *J Organ Dysfunction* 2008;(Special issue): 71–8.

O. Lesur*

*Soins intensifs médicaux, département de médecine,
CRC-CHUS, faculté de médecine,
CHU de Sherbrooke, 12, avenue Nord,
J1H 5N4 Fleurimont, 3001 Québec, Canada*

L. Thiberville

*Clinique pneumologique, hôpital Charles-Nicole,
CHU de Rouen, 76031 Rouen, France*

*Auteur correspondant.

Adresse e-mail : olivier.lesur@USherbrooke.ca (O. Lesur).

Disponible sur Internet le 10 février 2009