
APPLICATIONS DE LA MICROSCOPIE CONFocale A L'ENDOSCOPIE DIGESTIVE

Thierry BARRIEZ

CHU de POITIERS

L'endomicroscopie confocale est une nouvelle technique d'endoscopie diagnostique, faisant partie des nouvelles technologies appelées «bioendoscopies », qui permet de réaliser une vidéoendoscopie classique mais surtout une analyse microscopique *in vivo* de certaines zones de la muqueuse digestive, sélectionnées par l'opérateur. En fait c'est un « super zoom ».

L'évolution de l'endoscopie digestive diagnostique ces dernières années est surtout marquée par l'amélioration de la détection des lésions muqueuses du tube digestif (de petite taille, planes...). Il s'agit essentiellement de la détection de lésions précancéreuses (le plus souvent en dysplasie) ou de lésions déjà cancéreuses mais restant superficielles, microinvasives, ce qui permet la résection ou la destruction de celles par des méthodes endoscopiques. Le développement de ces méthodes de détection a surtout été motivé par l'apparition de techniques de résection muqueuse endoscopique à visée carcinologique et la publication de leurs résultats similaires à la chirurgie pour les lésions confinées à la muqueuse. Ce développement a également été possible grâce à certaines innovations technologiques comme la vidéoendoscopie de haute résolution et le grossissement par zoom optique (100 X).

La chromoendoscopie avec grossissement, couplant la coloration des muqueuses et l'utilisation d'endoscope avec zoom, a permis non seulement une meilleure détection de certaines lésions mais surtout d'approcher la caractérisation de celles ci. En effet, une fois la lésion repérée, l'idéal serait de réaliser lors de la même endoscopie, *in vivo*, un diagnostic de nature de celle ci. Le but est de réaliser une véritable biopsie virtuelle optique de la lésion, ce qui permettrait de décider immédiatement, toujours lors de la même endoscopie, la résection endoscopique ou non de cette lésion. Grâce à la chromoendoscopie avec grossissement (80 à 100 X) il est possible au niveau de la muqueuse colique notamment, de visualiser le puit des cryptes. Certains auteurs japonais ont ainsi décrits différents « pit pattern » (aspect des puits), permettant notamment dans certains cas de différencier les polypes adénomateux des hyperplasiques. Des études, essentiellement dans le domaine des polypes coliques et de l'endobrachyoesophage, ont permis d'établir des classifications de ces « pit

pattern » et ont montré une assez bonne corrélation avec les prélèvements histologiques.

Mais l'architecture des puits n'est pas celle des glandes, qui elles ne sont pas visibles avec un grossissement de 100 fois, et à cette échelle il est impossible de visualiser les cellules qui les composent. Pour visualiser les cellules de la muqueuse digestive, il ne faut pas un zoom mais un microscope, et donc obtenir un grossissement de 1000 fois. Mais les microscopes conventionnels ne permettent pas l'analyse *in vivo* des tissus, car nécessite une transillumination de ceux ci et donc la réalisation de coupes ultrafines des prélèvements ainsi que des colorations comme l'Hématoxyline-Eosine.

La microscopie confocale est une technique de microscopie bien connue des histologues, qui permet l'analyse de tissus avec une résolution de l'ordre du μm et sans préparation : pas de coloration, pas d'inclusion en paraffine ni coupe ultrafine. En effet, la microscopie confocale permet à partir d'un tissus épais d'obtenir l'analyse d'un seule couche, d'un seul plan, sans préparation, en quelque sortes une section optique du tissus.

La technique repose sur l'éclairage à l'aide d'une fibre optique unique, de la muqueuse préalablement imprégnée d'une substance fluorescente (voie IV pour la fluoroscène, par spray pour l'acriflavine) par une source laser d'une longueur d'onde de 488 nm. L'image obtenue subit une focalisation, seules les informations du plan de coupe sélectionné sont recueillies par la même fibre optique, transmises et traitées par l'ordinateur. Les autres informations émanant des autres plans sont supprimées par un système de fenêtres fines. Ceci permet une analyse tissulaire avec une résolution de l'ordre du μm . A cette échelle nous passons à l'étage cellulaire on peut donc visualiser non seulement le puits des glandes, mais les glandes elles mêmes, les cellules qui les composent (cellules caliciformes notamment, leurs noyaux ...) et l'espace interglande (capillaires, cellules du chorion...). Les images se rapprochent de celles des coupes histologiques. Il s'agit donc de véritable coupe optique de la muqueuse, véritables biopsies optiques ou virtuelles, et ceci *in vivo* avec l'obtention d'images en temps réels.

La microscopie confocale couplée à l'endoscopie ou endomicroscopie confocale, ne permet pas seulement une analyse microscopique en surface de la muqueuse digestive mais de l'analyser, comme un scanner, sur toute sa hauteur en réalisant des coupes successives (parallèles à la surface) de 7 µm d'épaisseur avec un champs de 300 X 400 µm. L'appareil que nous utilisons et un vidéoendoscope de haute résolution issus de la recherche Pentax dans lequel a été intégré un microscope confocal issus de la recherche Optiscan. Cet appareil permet donc la réalisation d'endoscopie conventionnelle et sur une zone déterminée par l'opérateur, en appliquant au contact de cette zone la lentille du microscope confocal située à l'extrémité de l'endoscope, réaliser une analyse histologique de la muqueuse sur toute sa hauteur à cet endroit.

Quelles sont donc les applications en pathologie digestive ? Il s'agit encore d'une technologie expérimentale, qui est toujours en cours d'évaluation, de nombreuses études doivent être menée avant d'envisager une application en pratique courante de cette technologie. Mais comme signalé plus haut, il s'agit essentiellement de la surveillance des muqueuses digestives à risque de dégénérescence, et du dépistage et de la caractérisation précoce de lésion précancéreuse ou cancéreuse de la muqueuse digestive. Ainsi, des études sont en cours pour l'évaluation de cette méthode dans la surveillance des malades porteurs d'une rectocolite hémorragique, pour la détection perendoscopique de zone dysplasique. La coloration par l'indigo carmin de la muqueuse permet de cibler les zones à risque et donc sur lesquelles les biopsies doivent porter, l'endomicroscopie permet de caractériser immédiatement ces zones et d'apprécier l'existence ou non d'une dysplasie et son degré.

Des études similaires sont en cours pour la muqueuse de Barrett, il a en effet été décrit en chromoendoscopie (indigo carmin ou acide acétique) avec grossissement, plusieurs pit pattern, permettant d'apprécier l'existence ou non de zone à risque de métaplasie intestinale ou de dysplasie de haut grade. Là encore, l'endomicroscopie confocale permet d'apprécier les modifications cellulaires (ration cyto-nucléaire...) et glandulaires permettant d'apprécier la présence de métaplasie intestinale, de dysplasie ou dégénérescence au niveau de

l'endobrachyoesophage. Il en est de même pour la gastrite chronique notamment au cours de l'infection à *Hélicobacter pylori*, la mise en évidence de la bactérie elle même semble accessible également à cette technique, ce qui là encore permettrait la mise en route précoce du traitement en vue de l'éradication, mais la surveillance des anomalies histologiques de la muqueuse.

Des essais sont en cours pour la caractérisation des polypes coliques dans le cadre ou non des polyposes, pour caractériser la nature de ces polypes : adénomateux ? hyperplasiques ? hamartomateux ? en dysplasie ? avec carcinome ? Avec des images bien plus précises (1000 X contre 100 X) que le zoom, avec des clichés se rapprochant de l'histologie.

Enfin, l'endomicroscopie confocale comme l'endoscopie d'ailleurs permet une étude dynamique puisque nous disposons d'images en temps réels. Nous menons actuellement des études sur la caractérisation des anomalies vasculaires muqueuses au cours de l'hypertension portale. Dans un second temps celles ci pourrait conduire par exemple, à des études sur l'action des substances vasoactives sur cette vascularisation.

Faire de l'histologie avec un endoscope, quel challenge ! Dépister, caractériser macroscopiquement et microscopiquement, éventuellement faire un staging par minisondes et enfin réaliser la résection par mucosectomie d'une lésion lors de la même endoscopie c'est peut être pour demain.