

COMMENT J'EXPLORE ... la peau par le photodiagnostic utilisant la fluorescence cutanée et son imagerie fonctionnelle

G. SZEPEIUUK (1), C. PIÉRARD-FRANCHIMONT (2), P. QUATRESOOZ (3),
G.E. PIÉRARD (4, 5)

RÉSUMÉ : Sous l'effet d'une stimulation lumineuse adéquate, la peau émet une fluorescence particulière. Cette propriété peut être mise à profit à titre diagnostique ou indicatif d'une fonction particulière de la peau. Diverses infections superficielles (érythrasma, pityriasis versicolor, teignes,...) révèlent une fluorescence parfois intense. Les follicules pilo-sébacés renfermant des propionibactéries apparaissent fluorescents. Cette propriété est perdue lors de certains traitements anti-acnéiques. Elle est masquée par des crèmes solaires. Les zones (pré)néoplasiques préparées pour la photothérapie dynamique deviennent fluorescentes. Certains marqueurs de la couche cornée, comme la pyranine, émettent une fluorescence, propriété permettant de mesurer l'activité de renouvellement de l'épiderme.

MOTS-CLÉS : Acné - *Propionibacterium acnes* - Biopsie de surface - Porphyrine - Crème solaire - Carcinome cutané - Fluorochrome

HOW I EXPLORE... SKIN BY PHOTODIAGNOSIS USING SKIN
FLUORESCENCE AND ITS FUNCTIONAL IMAGING

SUMMARY : Under specific light illumination, skin produces peculiar fluorescent aspects. Such property can be used to provide diagnostic arguments or to disclose some peculiar functions of the skin. Some superficial infections (erythrasma, tinea versicolor, dermatophytic tinea, ..) reveal fluorescence that may be intense. The pilosebaceous follicles enriched in *Propionibacterium* spp show fluorescence. Such property is lost during some anti-acne treatments. A quenching effect is observed after application of sunscreens. The (pre)neoplastic areas prepared for dynamic phototherapy become fluorescent. Pyranine labeling of the stratum corneum exhibits fluorescence allowing the assessment of the renewal activity of the epidermis.

KEYWORDS : Acne - *Propionibacterium acnes* - Skin surface stripping - Porphyrin - Sun protective cream - Cutaneous carcinoma - Fluorochrome

INTRODUCTION

En certaines circonstances particulières, diverses structures cutanées peuvent émettre une fluorescence suite à la stimulation lumineuse d'un fluorophore. Le pic d'excitation de la fluorescence est appelée bande de Soret. La fluorescence est ainsi induite et détectée sous différentes illuminations se situant dans le spectre allant de la lumière bleue aux rayons ultraviolets dont les longueurs d'onde sont comprises entre 300 et 450 nm (1, 2). Il peut s'agir de la lumière de Wood (370 à 405 nm), d'une lampe au xénon (375 à 400 nm), d'une lampe à arc (400 nm), d'une lampe au krypton (405 nm), d'une lampe à mercure avec un filtre adéquat, d'une source lumineuse bleue incohérente (380-440 nm), ou d'une lumière violette (405 nm), ainsi que de lampes diodes spécifiques (401 nm), et de bien d'autres systèmes également.

FLUORESCENCE DES FIBRES CONJONCTIVES DU DERMIS

Sous l'éclairage en lumière ultraviolette (autour de 375 nm) émise par une caméra

Visioscan® VC98 (C+K electronic, Cologne), les fibres de collagène et les fibres élastiques du derme émettent une fluorescence qui est, en partie, retournée vers la surface cutanée (3, 4). La lumière, dans son trajet aller-retour au travers de l'épiderme, est filtrée par la mélanine présente dans les kératinocytes (Fig. 1). L'image obtenue est hétérogène et reflète la mélanodermie infraclinique en mosaïque (MIM) qui représente probablement le reflet du photovieillessement (3-5). Elle correspond à un marqueur du risque de photocarcinogenèse incluant les carcinomes basocellulaires et spinocellulaires (3, 5, 6). Les tumeurs mélanocytaires riches en mélanine apparaissent noires à cet examen. L'hémoglobine qui absorbe la lumière incidente empêche toute émission de fluorescence. Dès lors, un angiome apparaît également noir au Visioscan®.

Le même appareillage permet de mieux visualiser un état squameux en mettant à profit la diffraction spéculaire de la lumière dans la couche cornée épaissie et desquamante (7, 8).

FLUORESCENCE FOLLICULAIRE

Les propionibactéries sont des microorganismes anaérobies et lipophiles qui s'accumulent dans certains infundibulums pilo-sébacés. Ils provoquent et entretiennent les réactions inflammatoires spécifiques de l'acné commune

(1) Assistant clinique, (2) Chargé de Cours adjoint, Chef de Laboratoire, (3) Maître de conférence, Chef de laboratoire, (4) Chargé de Cours, Chef de Service, Service de Dermatopathologie, CHU de Liège.
(5) Professeur honoraire, Université de Franche Comté, Besançon, France.

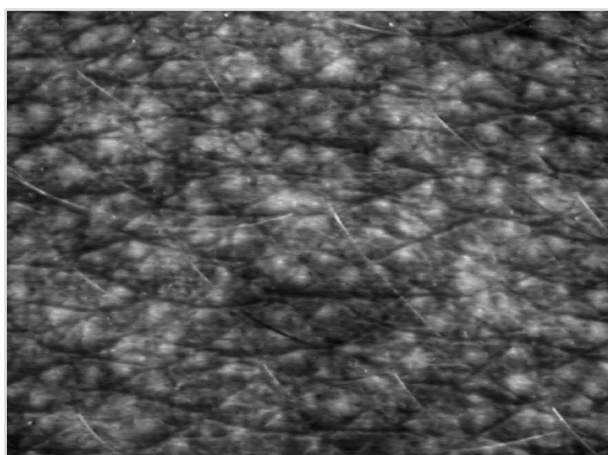


Figure 1. Mélanodermie infraclinique en mosaïque (MIM) révélée par le Visioscan® VC98.

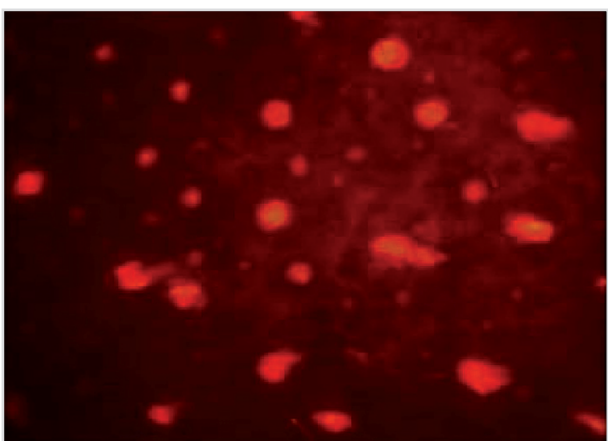


Figure 2. Aspect au Visiopor® PP34 des ostiums folliculaires fluorescents au niveau du front.

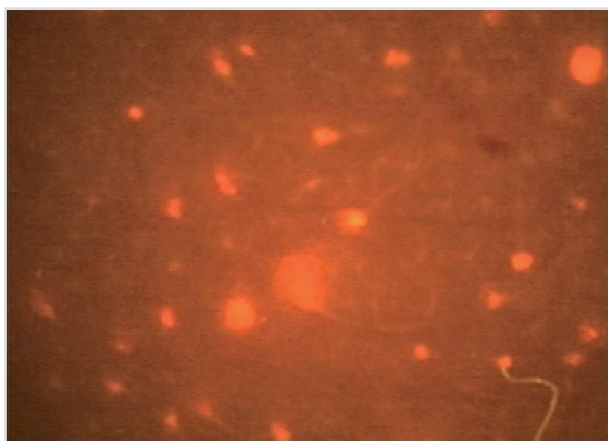
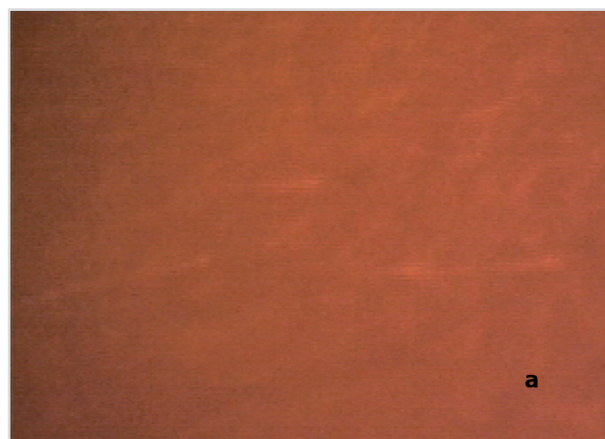
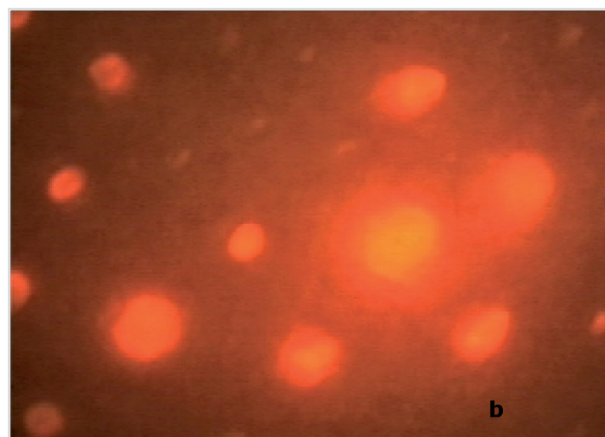


Figure 3. Fluorescence au Visiopor® PP34 de lésions acnéiques. Microcomédons et pustules plus larges et floues.



a



b

Figure 4. Aspect au Visiopor® PP34 du visage d'un patient acnéique traité par un antibiotique. a- Perte de la fluorescence folliculaire au niveau du front; b- Persistance de la fluorescence folliculaire au niveau d'une aile du nez.

via l'induction de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (9, 10). La densité en propionibactéries varie considérablement d'un follicule à l'autre, probablement en relation avec des conditions biologiques particulières favorables ou défavorables à sa prolifération. Avec l'âge, les premiers sites colonisés chez l'enfant sont le nez et le menton (11). Ce micro-organisme a pour caractéristique de synthétiser certaines porphyrines dont la coproporphyrine III qui est prédominante. Il s'agit d'un fluorochrome libéré dans l'ostium folliculaire (12). Une corrélation a été mise en évidence entre la fluorescence folliculaire et la séborrhée sans qu'un lien de causalité directe ne soit établi (13, 14).

Divers traitements médicaux et dermocosmétiques à visée antiacnéique ciblent cette bactérie. Il est donc possible d'identifier de manière rapide et non invasive cette présence afin d'affiner la thérapeutique et d'en évaluer son efficacité. Pour ce faire, le visage peut être photographié en lumière ultraviolette, ce qui révèle des ostiums folliculaires émettant une fluorescence rougeâtre (11, 15). Cette méthode souffre cependant

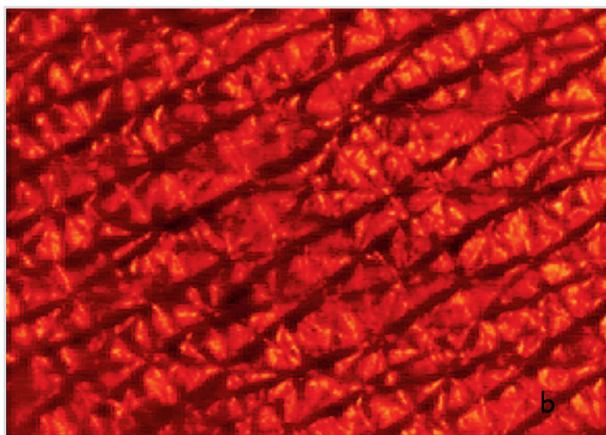
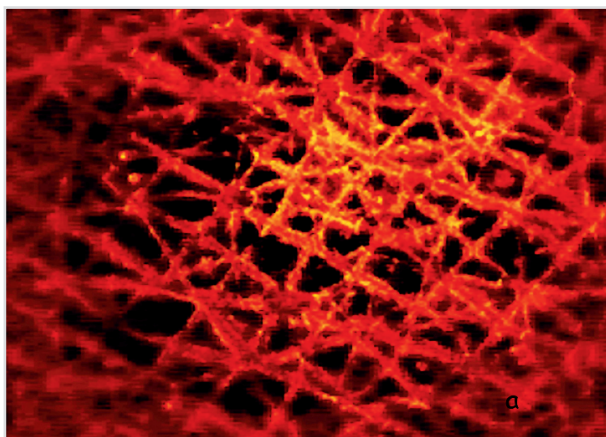


Figure 5. Aspect au Visiopor® PP34 du microrelief de la surface cutanée sur une biopsie de surface prélevée au niveau d'un avant-bras. a- Réseau micro-dépressionnaire; b- Plateaux délimités par les lignes primaires. Ces aspects correspondent à la réflexion spéculaire des ultraviolets.

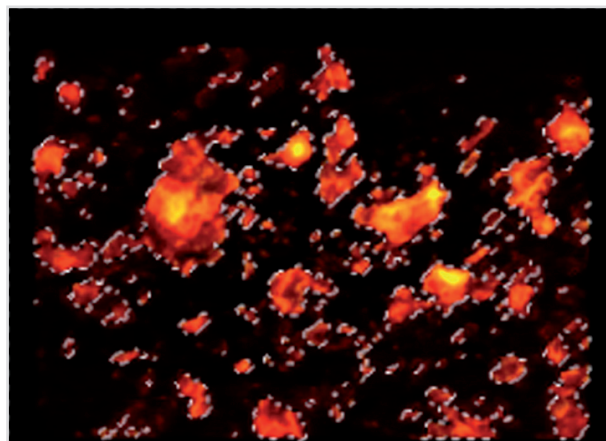


Figure 6. Aspect de pellicules au Visiopor® PP34.

d'un manque de précision, car la sensibilité et la reproductibilité de l'examen ne sont pas optimales. Les ombres portées du relief du visage compliquent également l'interprétation des images.

Ce problème est solutionné par l'emploi du Visiopor® PP34 (C+K electronic, Cologne) qui

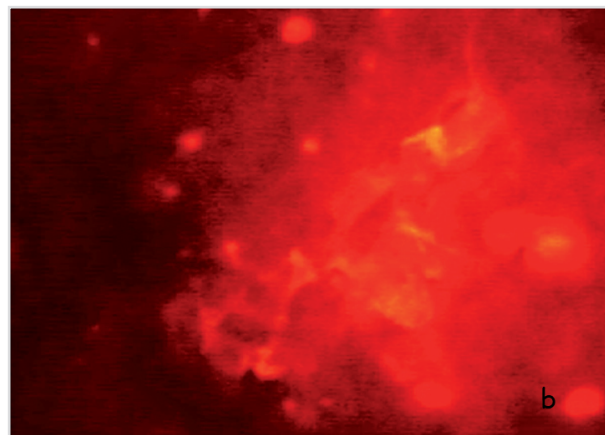
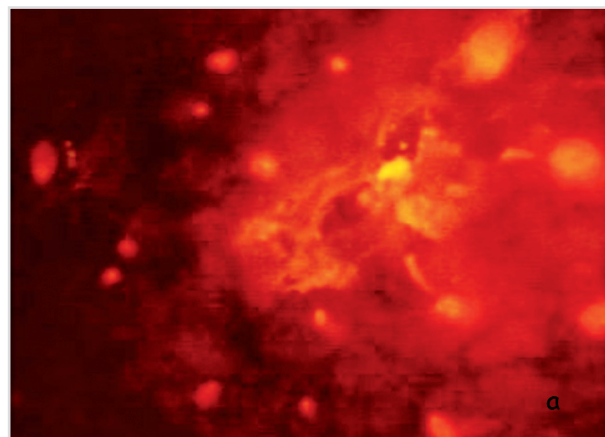


Figure 7. Aspect d'une kératose actinique au Visiopor® PP34. a- Diffraction spéculaire de l'illumination ultraviolette sans application préalable de MAL; b- Fluorescence de la zone englobant la kératose après application de MAL.

est une caméra munie de 6 diodes émettant dans le spectre de la lumière ultraviolette (375 nm) activant en particulier les porphyrines et quelques autres fluorochromes (16). La caméra est placée au contact de la surface de la peau à explorer et l'image vidéo est transférée sur un écran d'ordinateur. La surface testée mesure 6 x 8 mm. La fluorescence rouge-orangé des porphyrines folliculaires est facilement détectée sur l'extrémité céphalique du corps (Fig. 2). L'application d'une crème solaire abolit cette fluorescence puisqu'elle bloque le passage de la lumière ultraviolette incidente (16).

Un autre moyen d'explorer la fluorescence folliculaire repose sur l'examen de biopsies de surface au cyanoacrylate (17). Le prélèvement récolte la partie superficielle de la couche cornée et les bouchons cornés obstruant les ostiums folliculaires. L'observation sous le microscope révèle ainsi les microcomédons, ce qui permet de les quantifier par comédométrie (17). Lorsque cet examen est réalisé à l'aide d'un microscope à fluorescence, certains comédons apparaissent fluorescents, alors que d'autres ne le sont pas.

Le dénombrement des microcomédons fluorescents est une estimation de la densité des infundibulums colonisés par les propionibactéries (18, 19). Le Visiopor® PP34 peut également être utilisé pour examiner des biopsies de surface au cyanoacrylate. L'information est similaire à celle obtenue sous le microscope à fluorescence.

Chez les patients acnéiques, tout comme chez la plupart des individus sains, un nombre variable de microcomédons sont fluorescents. Ils sont particulièrement nombreux sur les ailes du nez et peuvent se voir au niveau du scalp. Ces structures sont nettement circonscrites. Les pustules d'acné montrent des caractéristiques similaires, bien que la fluorescence soit moins intense et plus diffuse (Fig. 3).

L'effet d'un agent actif contre les propionibactéries peut se manifester par une modification de la fluorescence qui devient plus pâle et verdâtre, et par une réduction de la densité des pores fluorescents. La cinétique de l'affaiblissement, voire de l'extinction de la fluorescence folliculaire, dépend de plusieurs facteurs. Certains antibiotiques administrés par voie orale affectent les propionibactéries (18). Fait remarquable, la fluorescence folliculaire s'éteint sur tout le visage, à l'exception des ailes du nez qui peuvent représenter un «sanctuaire protégé» pour ce microorganisme (Fig. 4 a,b). Les topiques anti-acnéiques actifs sur les propionibactéries effacent également la fluorescence folliculaire à l'endroit de leur application. Les agents comédolytiques entraînent la réduction en nombre des microcomédons, qu'ils soient fluorescents ou non (17).

FLUORESCENCE CUTANÉE EN DERMATO-INFECTIOLOGIE

Sur un plan historique, l'examen en lumière de Wood est un archétype utile au diagnostic clinique de dermatoses telles que le pityriasis versicolor, l'érythrasma, des infections par *Pseudomonas* et les teignes ectothrix du cuir chevelu.

FLUORESCENCE CUTANÉE ET EXPLORATION DYNAMIQUE DE L'ÉPIDERME

Le Visiopor® PP34 détecte la présence de molécules de synthèse ayant les caractéristiques de fluorochromes. Les agents blanchissants des textiles et la pyranine (composant des marqueurs-surligneurs jaunes) en sont des exemples (20). Ils peuvent être utilisés comme indicateurs de la vitesse de renouvellement de la couche cornée. La méthode est similaire à celle décrite

avec le chlorure de dansyle et la dihydroxyacétone (21-23). La cinétique d'extinction de la fluorescence peut être observée pendant les 8 à 15 jours qui suivent leur application (23). L'examen au Visiopor® PP34 est réalisable de manière itérative *in vivo* ou sur une biopsie de surface prélevée après un temps prédéterminé (7 à 10 jours). Selon la méthode utilisée, la fluorescence des lignes du réseau microdépressionnaire de la surface cutanée est plus intense que les plateaux qu'elles délimitent (Fig. 5a). L'inverse est également possible (Fig. 5b).

Un état pelliculaire est un autre exemple d'utilisation du Visiopor® PP34. Un prélèvement de fines squames pelliculaires est réalisé à l'aide de petits disques transparents auto-adhésifs. Ce matériel est placé sur une plaquette de référence noire et examiné par le Visiopor® PP34. Les pellicules sont reconnues par leur aspect fluorescent (Fig. 6). Une analyse d'image quantitative peut alors être réalisée.

FLUORESCENCE CUTANÉE EN DERMATO-ONCOLOGIE

Des carcinomes *in situ* et les carcinomes spinocellulaires micro-invasifs deviennent fluorescents après application d'acide 5-amino-levulinique ou de méthylaminolevulinate utilisé pour la photothérapie dynamique (5 ALA- ou MAL-PDT) (2, 24, 25). La dermatologie oncologique bénéficie du Visiopor® PP34 pour la détection de la carcinogenèse en champs, des carcinomes *in situ* et des kératoses actiniques. Le territoire cutané reçoit une application de 5 ALA ou de MAL. Ces molécules sont métabolisées en protoporphyrine IX, principalement par les cellules engagées dans la carcinogenèse. L'examen au Visiopor® PP34 en révèle la fluorescence prédominant au niveau des tumeurs. Les limites cliniques des lésions sont floues (Fig. 7a). En fait, la captation des 5 ALA ou de MAL n'est pas spécifiquement limitée aux cellules néoplasiques (26). Il faut remarquer que la tumeur apparaît parfois beaucoup mieux circonscrite avant toute application de MAL (Fig. 7b). C'est alors l'aspect squameux kératosique de la tumeur qui est mis en évidence (27). L'efficacité d'un traitement quel qu'il soit peut être évaluée par la réduction ou la disparition de la fluorescence rougeâtre.

Les carcinomes basocellulaires sont également fluorescents après application de MAL. Les limites tumorales sont beaucoup mieux circonscrites que pour les carcinomes spinocellulaires et leurs précurseurs (28).

Les images révélées par le Visioscan® VC98 s'avèrent utiles dans l'exploration de la photocarcinogenèse en champs (29, 30). Ce terme indique un territoire cutané photoexposé qui présente des altérations moléculaires indicatrices d'une transformation maligne infraclinique qui est potentiellement à l'origine de cancers cutanés multiples. On y retrouve des altérations de la MIM et des troubles infracliniques de la structure de la couche cornée.

FLUORESCENCE CUTANÉE DANS LES PATHOLOGIES PIGMENTAIRES

Historiquement, la lampe de Wood a été utilisée pour mieux repérer des lésions hypopigmentées (vitiligo, sclérose tubéreuse de Bourneville, ...) et hyperpigmentées (mélasma, ...). Le Visioscan® est beaucoup plus sensible pour détecter tant les troubles pigmentaires que l'effet des traitements (31-33).

CONCLUSION

Le photodiagnostic utilisant la fluorescence cutanée s'applique à une diversité de pathologies de la peau. La nouvelle technologie basée sur l'emploi d'une caméra sensible équipée de diodes émettant dans un spectre étroit et spécifique de la lumière ultraviolette permet l'obtention d'images d'une grande qualité.

BIBLIOGRAPHIE

1. Scott MA, Hopper C, Sahota A, et al.— Fluorescence photodiagnosis and photobleaching studies of cancerous lesions using ratio imaging and spectroscopic techniques. *Laser Med Sci*, 2000, **15**, 63-72.
2. Liutkeviciute-Navickiene J, Mordas A, Rutkovskiene L, et al.— Skin and mucosal fluorescence diagnosis with different light sources. *Eur J Dermatol*, 2009, **19**, 135-140.
3. Piérard-Franchimont C, Piérard GE.— Héliodermie hétérochrome et risque de cancers cutanés. *Rev Med Liège*, 1998, **53**, 355-356.
4. Quatresooz P, Piérard GE.— The Visioscan-driven ULEV and SELS methods. In : *Handbook of Cosmetic Science and Technology*, 3ème édition. Barrel AO, Paye M, Maibach HI (eds). Publ. Informa Helathcare, New York, USA, 2009, pp 283-290.
5. Petit L, Fougouang L, Uhoda I, et al.— Regional variability in mottled photo-induced melanoderma in the elderly. *Exp Gerontol*, 2003, **38**, 327-331.
6. Quatresooz P, Petit L, Uhoda I, et al.— Mosaic subclinical melanoderma : an Achilles heel for UV-related epidermal carcinogenesis. *Int J Oncol*, 2004, **25**, 1763-1767.
7. Uhoda E, Piérard-Franchimont C, Petit L, et al.— Skin weathering and ashiness in black Africans. *Eur J Dermatol*, 2003, **13**, 574-578.
8. Uhoda E, Petit L, Piérard-Franchimont C, et al.— Ultra-violet light-enhanced visualization of cutaneous signs of carotene and vitamin A dietary deficiency. *Acta Clin Belg*, 2004, **59**, 97-101.
9. Schaller M, Loewenstein M, Borelli C, et al.— Induction of a chemoattractive proinflammatory cytokine response after stimulation of keratinocytes with *Propionibacterium acnes* and coproporphyrin III. *Br J Dermatol*, 2005, **153**, 66-71.
10. Borelli C, Merk K, Schaller M, et al.— In vivo porphyrin production by *P. acnes* in untreated acne patients and its modulation by acne treatment. *Acta Derm Venereol*, 2006, **86**, 316-319.
11. McGinley KJ, Webster GFO, Leyden JJ.— Facial follicular porphyrin fluorescence: correlation with age and density of *Propionibacterium acnes*. *Br J Dermatol*, 1980, **102**, 437-441.
12. Johnsson A, Kjeldstad B, Melo TB.— Fluorescence from pilosebaceous follicles. *Arch Dermatol Res*, 1987, **279**, 190-193.
13. Son T, Han B, Jung B, et al.— Fluorescent image analysis for evaluating the condition of facial sebaceous follicles. *Skin Res Technol*, 2008, **14**, 201-207.
14. Youn SW, Kim JH, Lee JE, et al.— The facial red fluorescence of ultraviolet photography : is this color due to *Propionibacterium acnes* or the unknown content of secreted sebum ? *Skin Res Technol*, 2009, **15**, 230-236.
15. Pagnoni A, Kligman AM, Kollias N, et al.— Digital fluorescence photography can assess the suppressive effect of benzoyl peroxide on *Propionibacterium acnes*. *J Am Acad Dermatol*, 1999, **41**, 710-716.
16. Xhaufflaire-Uhoda E, Szepeituk G, Schreder A, et al.— Traçabilité de la fluorescence folliculaire due à *Propionibacterium acnes*. Effet d'extinction par certains anti-acnéiques et des crèmes solaires. *Skin*, 2010, **13**, 87-88.
17. Piérard-Franchimont C, Arrese-Estrada J, Quatresooz P, Piérard GE.— Cyanoacrylate skin surface strippings. Dans : *Textbook of aging skin*. Farage M, Miller KW, Maibach HI (eds). Publ. Springer Science, Heidelberg, 2010.
18. Piérard-Franchimont C, Goffin V, Arrese J, et al.— Lymecycline and minocycline in inflammatory acne. A randomized, double-blind study on clinical and in vivo antibacterial efficacy. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*, 2002, **15**, 112-119.
19. Uhoda E, Piérard-Franchimont C, Petit L, Piérard GE.— The conundrum of skin pores in dermocosmetology. *Dermatology*, 2005, **210**, 3-7.
20. Pagnoni A, Kligman AM, Stoudemayer T.— Pyranine, a fluorescent dye, detects subclinical injury to sodium lauryl sulfate. *J Cosmet Sci*, 1998, **49**, 33-38.
21. Takahashi M, Black D, Hughes B, et al.— Exploration of a quantitative dansyl chloride technique for measurement of the rate of desquamation. *Clin Exp Dermatol*, 1986, **12**, 246-249.
22. Piérard GE, Piérard-Franchimont C.— Dihydroxyacetone test as a substitute for the dansyl chloride test. *Dermatology*, 1993, **186**, 133-137.
23. Uhoda E, Piérard-Franchimont C, Debatisse B, et al.— Repair kinetics of stratum corneum under repeated insults. *Exog Dermatol*, 2004, **3**, 7-11.
24. Fritsch C, Ruzicka T.— Fluorescence diagnosis and photodynamic therapy in dermatology from experimental state to clinic standard methods. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 2006, **25**, 425-440.

25. Vereecken P, Da Costa CM, Steels E, et al.— Fluorescence diagnosis of face-located basal cell carcinomas: a new dermatological procedure which may help the surgeon. *Acta Chir Belg*, 2007, **107**, 205-207.
26. Martin A, Tope WD, Grevelink JM, et al.— Lack of selectivity of protoporphyrin IX fluorescence for basal cell carcinoma after topical application of 5-aminolevulinic acid: implications for photodynamic treatment. *Arch Dermatol Res*, 1995, **287**, 665-674.
27. Quatresooz P, Piérard-Franchimont C, Paquet P, et al.— Crossroads between actinic keratosis and squamous cell carcinoma, and novel pharmacological issues. *Eur J Dermatol*, 2008, **18**, 6-10.
28. Wennberg AM, Gudmundson F, Stenquist B, et al.— In vivo detection of basal cell carcinoma using imaging spectroscopy. *Acta Derm Venerol*, 1999, **79**, 54-61.
29. Quatresooz P, Xhauflaire-Uhoda E, Piérard-Franchimont C, et al.— Epidermal field carcinogenesis in bald-headed. An attempt at finetuning early noninvasive detection. *Oncol Rep*, 2009, **21**, 313-316.
30. Xhauflaire-Uhoda E, Piérard-Franchimont C, Piérard GE, et al.— Weathering of the hairless scalp : a study using skin capacitance imaging and ultraviolet light-enhanced visualization. *Clin Exp Dermatol*, 2010, **35**, 83-85.
31. Thirion L, Piérard-Franchimont C, Piérard GE.— Whitening effect of a dermocosmetic formulation. A randomized double-blind controlled study on melasma. *Int J Cosmet Sci*, 2006, **28**, 263-267.
32. Piérard-Franchimont C, Paquet P, Quatresooz P, et al.— Smoothing the mosaic subclinical melanoderma by calcipotriol. *J Eur Acad Dermatol Venerol*, 2007, **21**, 657-661.
33. Piérard-Franchimont C, Henry F, Quatresooz P, et al.— Analytic quantification of the bleaching effect of a 4-hydroxyanisole-tretinoin combination on actinic lentigines. *J Drugs Dermatol*, 2008, **7**, 873-878.

Les demandes de tirés à part sont à adresser au Pr. G.E. Piérard, Service de Dermatopathologie, CHU de Liège, 4000 Liège, Belgique.
Email : gerald.pierard@ulg.ac.be