

# Nouvelles méthodes d'évaluation clinique de la microcirculation cutanée

*P.-H. Carpentier*

Laboratoire de Médecine Vasculaire, Université Joseph Fourier, Grenoble, France

## Abstract

### New Techniques for Clinical Assessment of the Peripheral Microcirculation

Current methods for clinical investigation of the cutaneous microcirculation in patients are mainly based on laser Doppler and capillary microscopy.

The use of laser Doppler gives a semi-quantitative index of superficial tissue perfusion. The most recent devices are capable of analysing both the volumetric and velocimetric components. New instruments use two different frequencies to compare tissue perfusion at different depths beneath the skin surface. The combination of a laser probe and a small automate produces a 2-dimensional image, allowing the evaluation of spatial heterogeneity in tissue perfusion, an important pathophysiological concept in vascular diseases.

Capillaroscopy has recently been improved by the emergence of flexible videomicroscopes, allowing easy exploration of not only the classical site of the nailfold but also of the body skin surface. The use of this method was therefore extended – from vascular acrosyndromes and connective tissue diseases to the whole spectrum of skin trophic changes of the extremities. Systems for digital image analysis allow quantification of the microvascular bed structure (quantitative appraisal of microangiopathies) and function (capillary haemodynamics and exchange).

Laser Doppler and capillaroscopy can also be combined for the measurement of red blood cell velocity in single capillaries.

## Résumé

Les techniques d'étude de la microcirculation accessibles au clinicien sont essentiellement fondées sur le laser-Doppler et la capillaroscopie.

Le laser-Doppler donne de manière simple une mesure semi-quantitative de la perfusion sanguine des tissus superficiels. Les appareils récents autorisent une analyse du signal (flux) en ses deux composantes volumique et vélocimétrique. L'utilisation de sondes bifréquences permet de comparer le flux et ses composantes à différentes profondeurs. Enfin, la combinaison d'un laser-Doppler et d'un petit automate réalise des cartographies de flux superficiels, permettant l'évaluation de l'hétérogénéité spatiale de perfusion.

La capillaroscopie a bénéficié de l'apparition de vidéomicroscopes maniables, qui permettent d'explorer facilement l'ensemble des téguments cutanés, et d'élargir les indications au-delà des acrosyndromes et connectivités à l'ensemble des troubles trophiques vasculaires des extrémités. L'application à l'image capillaroscopique des techniques d'analyse numérique donne accès à une quan-

tification morphométrique des microangiopathies. Laser-Doppler et capillaroscopie peuvent également se combiner pour autoriser la mesure de la vitesse globulaire au niveau de capillaires individuels.

Interface entre l'appareil circulatoire et les tissus qu'il irrigue, la microcirculation a une structure complexe et une régulation élaborée. Cela lui permet de remplir au mieux ses différentes fonctions d'échanges métaboliques, liquidiens, de chaleur et d'informations, en s'adaptant à l'organisation anatomique du tissu environnant comme aux variations des conditions hémodynamiques imposées par les macrocirculations artérielle et veineuse. Longtemps, cette microcirculation a été considérée comme une boîte noire inexplorable dont on analysait les grandeurs d'entrée et de sortie pour en décrire les fonctions. Actuellement, il est possible de l'explorer de manière assez complète, et ce même *in vivo* chez l'homme, grâce essentiellement à deux types de techniques d'explorations fondées sur le laser-Doppler et la capillaroscopie, qui font l'objet de cette brève mise au point, et dont les principaux développements intéressent le tissu cutané.

## 1. Laser-Doppler

Le laser-Doppler est basé sur la mesure vélométrique des globules rouges en mouvement dans les microvaisseaux superficiels par effet Doppler. Le principe est donc analogue à celui du Doppler à ultrasons largement utilisé pour explorer les gros vaisseaux : l'onde réfléchie par le globule rouge en mouvement subit un décalage de fréquence proportionnel à sa vitesse, ce qui permet de mesurer celle-ci. Toutefois, les vitesses circulatoires de la microcirculation capillaroveinulaire, de l'ordre de 100 à 500  $\mu\text{m/sec}$  sont trop faibles pour être détectées facilement par les ultrasons. On utilise donc des photons cohérents produits par des lasers He-Ne de faible puissance (tableau I).<sup>[1,2]</sup>

En pratique, le capteur, posé sur la peau grâce à un autocollant double face, échantillonnera les vitesses circulatoires de tous les globules situés

dans un volume de mesure correspondant approximativement à une demi-sphère d'un millimètre de diamètre. C'est le spectre des puissances correspondant aux fréquences Doppler qui constitue, après filtrage, le signal enregistré. Celui-ci est proportionnel à la fois à la vitesse moyenne et au nombre des globules rouges en mouvement dans le volume tissulaire échantillonné (tableau II). Il doit être considéré comme un index semi-quantitatif de perfusion tissulaire.<sup>[1,3,4]</sup> Du fait d'une pénétration relativement importante, les vaisseaux pris en compte ne sont pas seulement les capillaires papillaires, mais aussi les vaisseaux artéio-veineux du derme superficiel et moyen.<sup>[5,6]</sup> La circulation nutritionnelle n'est pas la seule intéressée par la mesure, et l'interprétation de la mesure est donc beaucoup plus délicate que son acquisition (tableau III). Le principal avantage de la méthode est une très grande sensibilité, ce qui permet d'enregistrer facilement les fluctuations temporelles de la vasomotion rythmique, et de réaliser des tests dynamiques physiologiques, d'hyperhémie post-ischémique, de mise en jeu du réflexe veino-artériaire, et bien sûr de réactivité à l'administration d'une substance vasoactive.<sup>[3,7,8]</sup>

Un certain nombre d'améliorations sont venues récemment perfectionner la technique :<sup>[8]</sup>

- logiciel autorisant l'analyse des composantes vélométrique et volumique du signal ;
- capteurs bifréquences mesurant simultanément la perfusion cutanée à deux niveaux de profondeur ;
- combinaison du laser-Doppler à un petit automate, capable de recueillir le signal en différents points d'une zone prédefinie et de restituer une cartographie de perfusion en fausses couleurs de manière analogue à ce que fait la thermographie pour le paramètre température.

**Tableau I.** Caractéristiques techniques des principaux laser-Dopplers

Instrument	Laser	$\lambda$ (nm)	Traitement	Filtre	Sortie		
					flux	CMBC	vitesse
MedPacific LD-600	He-Ne	632	Analogique + digital	Fixe	+	+	+
TSI BPM 403A	Diode	782	Digital	Auto	+	+	+
Perimed PF3	He-Ne	632	Analogique	Manuel	+	+	
Imageur Lisca	He-Ne	632	Digital	Fixe	+		
Perimed PF4 bifréquence	Diode + tube	782/543	Digital	Fixe	+	+	+

$\lambda$  = longueur d'onde ; CMBC = concentration cellulaire ; + = paramètres traités par l'instrument.

**Tableau II.** Limitations techniques des laser-Dopplers

Hypothèse théorique	Traitement du signal	Limite d'interprétation
Homogénéité du tissu	Equations de diffusion aléatoire	Calibration impossible
Orientation aléatoire des vaisseaux		
Homogénéité relative des vitesses globulaires	Filtre passe-haut Puissance du spectre	Stase : concentration cellulaire sous-estimée erreurs sur la vitesse
Les hématies circulantes sont les seules sources significatives d'effet Doppler		Phénomène du zéro biologique : mouvements browniens vasculaires, interstitiels et intracellulaires
Leurs mouvements sont représentatifs de la perfusion tissulaire		agrégation et sédimentation des hématies vasomotion, circulation résiduelle vasculaire et interstitielle

## 2. Capillaroscopies

Les capillaroscopies sont des techniques de visualisation des microvaisseaux superficiels fondées sur la microscopie optique *in vivo*. L'analyse morphologique du réseau capillaire dermique superficiel permet l'évaluation non traumatique de différentes microangiopathies. Les capillaroscopies peuvent également être couplées à des méthodes sophistiquées d'analyse de la vitesse circulatoire, de la pression capillaire, de la concentra-

tion d'un traceur fluorescent autorisant des études physiologiques et pharmacologiques fines chez l'homme.

### 2.1 Technique de visualisation

Les systèmes optiques utilisés pour la visualisation *in vivo* des capillaires cutanés superficiels, au niveau du derme papillaire, sont le plus souvent des biomicroscopes ou des loupes binoculaires qui possèdent plusieurs particularités :<sup>[9-12]</sup>

**Tableau III.** Limitations physiologiques des laser-Dopplers

Source de variation	Conséquences	Précautions à prendre
Pigmentation	Atténuation du signal	Eviter ou caractériser les lésions dermatologiques au site de mesure
Hyperkératose		
Œdème		
Hétérogénéité spatiale	Fluctuations spatiales Limite la reproductibilité	Repérage très précis du site Intérêt de l'imageur laser-Doppler
Etat vasomoteur	Fluctuations temporelles Limite la reproductibilité	Environnement contrôlé Acclimatation et prétest
Température locale	Variations : concentration cellulaire + vitesse ++ zéro biologique ++	Sonde chauffante ou mesure de la température Mesure du zéro biologique
Pression veineuse	Variations de concentration cellulaire +++	Eviter décubitus strict Eliminer ou enregistrer le cycle respiratoire

+ = variation modérée ; ++ = variation importante ; +++ = variation très importante.

- l'éclairage est incident (épi-illumination), en lumière froide ;
- les agrandissements utilisés varient de X15 à X100 ;
- la profondeur de champ est importante, car les capillaires ne sont jamais strictement dans un même plan ;
- une distance frontale (objectif – objet) de plusieurs centimètres permet d'améliorer le confort de l'examen ;
- la préparation de la peau consiste en la simple application d'une goutte d'huile à immersion ;
- le recueil de documents est réalisé par l'intermédiaire d'un appareil photographique ou d'une caméra vidéo adaptés à l'une des sorties optiques de l'appareil.

## 2.2 La capillaroscopie périunguéale

L'examen de la région périunguéale est le mieux validé.<sup>[10-13]</sup> Le capillaroscope ne visualise pas la paroi du capillaire, mais les érythrocytes qui en moulent la lumière. Ce sont donc seulement les capillaires fonctionnels au moment de l'examen qui sont visibles. Ils prennent l'aspect de boucles en épingle à cheveux de 6 à 15 $\mu$ m de diamètre, plus ou moins rectilignes et parallèles entre elles, alignées en plusieurs rangées et orientées vers l'extrémité du doigt. La recherche d'anomalies morphologiques doit être réalisée systématiquement sur l'ensemble des doigts accessibles :

- les extravasations de globules rouges entraînent des dépôts brunâtres qui migrent vers le rebord épidermique ; ces microhémorragies témoignent d'une souffrance capillaire qui peut être liée à une microangiopathie, mais aussi à des orages vaso-moteurs intenses ou à des traumatismes ;
- la présence de tortuosités ou de ramifications peu nombreuses (dystrophies mineures) n'a pas de signification pathologique précise, alors que l'existence de nombreuses boucles richement ramifiées (aspects en feuilles de fougère, en buissons) est évocatrice de maladie systémique sans permettre un diagnostic précis ;
- l'élément sémiologique le plus intéressant est l'existence de capillaires géants (plus de 50 $\mu$ m

de diamètre, soit 5 fois le calibre normal) qui va de pair avec une diminution hétérogène de la densité capillaire et une désorganisation de l'arrangement des boucles dans la sclérodermie systémique.

Ce dernier aspect, qui forme un paysage capillaroscopique très caractéristique, est en fait le seul dont la présence ou l'absence revêt une signification clinique utilisable sur le plan décisionnel :

- Il est pathognomonique des connectivites, évoquant surtout la sclérodermie systémique (tableau IV), les dermatomyosites, et les connectivites frustes à évolution sclérodermique (syndromes de Sharp et CREST)
- Il est également extrêmement sensible et précoce, fournissant actuellement le meilleur élément du dépistage des phénomènes de Raynaud à risque d'évolution sclérodermique (tableau V). Ces éléments justifient la réalisation d'une capillaroscopie périunguéale chez tout sujet présentant un phénomène de Raynaud
- Ce n'est que dans les formes à dilatations modérées et sans raréfaction qu'il faudra éliminer certaines acrocyanoses bénignes où la stase importante s'accompagne parfois d'une dilatation capillaire impressionnante (pour ce faire, un contrôle évolutif en période chaude est parfois nécessaire)
- Certaines variantes morphologiques ont une valeur pronostique relative : dans les sclérodermies diffuses, à évolution péjorative, la destruction capillaire, avec raréfaction, désorganisation, et parfois ramifications de néogenèse réactionnelle, prime sur la dilatation,

Table IV is not available for electronic viewing

Table V is not available for electronic viewing

alors que les aspects relativement réguliers à mégacapillaires nombreux sont plus volontiers retrouvés dans les formes limitées. L'ensemble de ces éléments peut être quantifié par analyse d'image numérique, permettant la surveillance de la maladie.<sup>[14,16]</sup>

### 2.3 Capillaroscopie "en pleine peau"

L'apparition des vidéomicroscopes, comme le progrès de nos connaissances pathogéniques sur l'importance de la microcirculation dans la pathogénèse des complications trophiques des insuffisances artérielles et veineuses, explique l'essor actuel de la capillaroscopie en pleine peau. Celle-ci est surtout pratiquée au cou-de-pied pour l'insuffisance veineuse, et au dos du pied (premier espace intermétatarsien et orteils) dans l'insuffisance artérielle.

Au niveau des téguments cutanés des membres inférieurs, les capillaires sont perpendiculaires à la surface de la peau. Seul le sommet de la boucle est visible, sous forme de point, ou de virgule venant se brancher sur un rameau de plexus veinulaire visible si la peau est fine.

L'insuffisance veineuse se caractérise<sup>[18,19]</sup> par une diminution de la densité des capillaires, un élargissement des papilles dermiques dont la taille devient hétérogène, et les contours soulignés par les dépôts d'hemosidérine de la dermite ocre. La diminution de la densité capillaire est partiellement compensée par une augmentation de longueur, et donc de tortuosité des capillaires, qui vont jusqu'à prendre une forme de peloton glomérulaire dans les formes sévères (hypodermite scléreuse, atrophie blanche). Notons que dès l'apparition des premiers troubles trophiques, les veinules ne sont plus visibles.

Dans l'insuffisance artérielle, Fagrell a décrit 3 classes de gravité croissante, et validé leur valeur discriminante du pronostic en matière d'amputation :<sup>[4,6]</sup> (i) dilatation capillaire ; (ii) œdème gênant la visualisation capillaire ; (iii) absence de capillaire visible (stade pré-nécrotique).

Si les capillaroscopies sont habituellement utilisées pour leur information morphologique, elles ont la grande supériorité sur les techniques indirectes (laser-Doppler, PO<sub>2</sub> transcutanée) d'être à l'abri des artefacts d'interprétation, avantage qui n'est pas mince dans un domaine aussi complexe que la microcirculation. L'absence de quantification et le caractère subjectif, opérateur-dépendant, de ces capillaroscopies constituent cependant une limitation importante, en passe d'être franchie grâce aux techniques d'analyse d'image, qui autorisent actuellement le développement des capillaroscopies quantitatives.

### 2.4 Capillaroscopies quantitatives

A partir d'images capillaroscopiques de bonne qualité, les systèmes informatiques permettent d'extraire facilement des données quantitatives de taille, densité, et des paramètres morphométriques du réseau capillaire, ce qui permet d'évaluer quantitativement les microangiopathies, mais aussi les variations de diamètre des microvaisseaux sous l'influence de stimuli vasomoteurs.

Le développement de la morphométrie capillaroscopique automatisée est fondé sur l'association de la vidéomicroscopie et de l'analyse d'images numérique :<sup>[20]</sup>

- la vidéomicroscopie ne fait plus actuellement appel à la prise de vue vidéo en sortie de microscope classique, mais à des caméras miniaturisées de contact, munies d'un éclairage

- incorporé et d'une optique grossissante, qui permettent d'explorer facilement l'ensemble des téguments cutanés. Ces caméras permettent donc l'examen de la zone périunguéale, mais surtout rendent beaucoup plus aisés celui des extrémités des membres inférieurs, remettant à l'honneur la sémiologie microscopique de l'insuffisance veineuse sévère et de l'artériopathie décompensée décrite plus haut ;
- l'analyse d'images numériques est actuellement disponible sur micro-ordinateur, et évolue rapidement dans ses capacités de traitement comme dans son coût.

Les systèmes actuellement développés pour la microcirculation autorisent la quantification automatique des diamètres, longueurs, surfaces et densités capillaires périunguérales ; ils permettent ainsi l'obtention de paramètres très discriminants pour le diagnostic de microangiopathie sclérodermique et autorisent un suivi comparatif.<sup>[11]</sup> Une approche analogue est développée aux niveaux conjonctival et rétinien, où les anomalies constatées aux stades de début des microangiopathies hypertensive et diabétique sont quantitatives et donc mal appréciées par les techniques traditionnelles. Enfin, les variations de taille et de densité capillaire sont également importantes en pleine peau, au niveau des troubles trophiques veineux et artériels, et présentent un intérêt pronostique.<sup>[19]</sup> La densité en capillaires fonctionnels est également diminuée dans l'hypertension artérielle au niveau de la peau de l'avant-bras.<sup>[21]</sup> Cette dimension nouvelle de la capillaroscopie nous paraît donc en mesure d'en élargir considérablement le champ d'application clinique.

D'autre part, en utilisant des capillaroscopes à fort grossissement, il est également possible d'avoir une approche hémodynamique de la circulation capillaire, en mesurant la vitesse circulatoire (temps de transit des capillaires entre deux fenêtres de vidéodensitométrie), et même la pression capillaire, après canulation d'un capillaire à l'aide d'une micropipette montée sur un micromanipulateur. Ces techniques restent toutefois l'apanage de laboratoires très spécialisés car elles nécessitent un

matériel spécifique et une grande expérience.<sup>[5,9,22]</sup> Elles permettent des applications physiopathologiques<sup>[23,24]</sup> et pharmacologiques.<sup>[25-27]</sup>

L'injection d'un traceur coloré comme la fluorescéine sodique permet d'examiner, à l'aide d'un capillaroscope à fluorescence, le passage transcapillaire de cette petite molécule. La fluorescence péricapillaire est facilement quantifiable et permet une approche des échanges de diffusion de petites molécules.<sup>[9]</sup> Le vert d'indocyanine se couple à l'albumine et permet d'évaluer la perméabilité capillaire aux macromolécules, mais nécessite une caméra infrarouge très sensible.<sup>[9]</sup> Enfin, l'injection de macromolécules fluorescentes (FITC-Dextrans) en intradermique permet d'opacifier la microcirculation lymphatique, d'en examiner la morphologie, et éventuellement, de mesurer aussi, à ce niveau, vitesses circulatoires et pressions ; c'est la microlymphographie de fluorescence, qui a permis de mettre en évidence des altérations importantes de la microcirculation lymphatique dans les lymphœdèmes et l'insuffisance veineuse chronique évoluée.<sup>[9]</sup>

### 3. Conclusion

Les outils existent donc déjà, qui permettent d'évaluer la microcirculation *in vivo* chez l'homme, et ce de manière non invasive. Cette approche est utile dans le cadre de la recherche clinique physiopathologique ou pharmacologique, mais aussi de plus en plus pour l'obtention d'informations diagnostiques ou pronostiques optimisant les prises de décision clinique. Au mieux, c'est l'utilisation combinée de différentes méthodes, physiques et capillaroscopiques qui permettront d'apprécier finement l'état du patient, ce qui justifie le développement de laboratoires de microcirculation clinique bien équipés, et où l'on trouve les compétences cliniques nécessaires à la prise en charge des malades concernés.

### Références

1. Carpentier PH. Laser-Doppler: principles and indications. J Physique 1987; 48: 271-4
2. Michelson G, Langhans MJ, Groh MJ. Clinical investigation of the combination of a scanning laser ophthalmoscope and laser Doppler flowmeter. Ger J Ophthalmol 1995; 4: 342-9

3. Belcaro G, Laurora G, Cesarone MR, et al. Microcirculation in high perfusion microangiopathy. *J Cardiovasc Surg (Torino)* 1995; 36: 393-8
4. Fagrell B. Microcirculatory methods for the clinical assessment of hypertension, hypotension, and ischemia. *Ann Biomed Eng* 1986; 14: 163-73
5. Fagrell B. Dynamics of skin microcirculation in humans. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7 Suppl. 3: S53-8
6. Fagrell B. Advances in microcirculation network evaluation: an update. *Int J Microcirc Clin Exp* 1995; 15 Suppl. 1: 34-40
7. Bongard O, Bounameaux H. Clinical investigation of skin microcirculation. *Dermatology* 1993; 186: 6-11
8. Seifalian AM, Stansby G, Jackson A, et al. Comparison of laser Doppler perfusion imaging, laser Doppler flowmetry, and thermographic imaging for assessment of blood flow in human skin. *Eur J Vasc Surg* 1994; 8: 65-9
9. Bollinger A, Fagrell B. Clinical capillaroscopy: guide to its use in clinical research and practice. Toronto, Lewiston, New York, Bern, Göttingen, Stuttgart: Hogrefe et Huber, 1990
10. Carpenterier PH, Franco A. La capillaroscopie périunguiale. Paris: Lab Lafon. Deltacom ed, 1981
11. Davis E, Landau J. Clinical capillary microscopy. Springfield, Illinois: Thomas, 1966
12. Vayssarat M, Priollet P. Atlas pratique de capillaroscopie. Paris: Les Editions de la Revue de Médecine, 1983
13. Merlen JF. La capillaroscopie, moyen d'exploration fonctionnelle. *Ann Méd Nancy* 1980; 19: 189-95
14. Carpenterier PH, Maricq HR. Microvasculature in systemic sclerosis. *Rheum Dis Clin North Am* 1990; 16: 75-91
15. Jouanny P, Schmidt C, Feldmann L, et al. Valeur de la capillaroscopie péri-unguiale dans le diagnostic des maladies systémiques. *Press Med* 1993; 22: 1256-60
16. Blockmans D, Beyens G, Verhaeghe R. Predictive value of nailfold capillaroscopy in the diagnosis of connective tissue diseases. *Clin Rheumatol* 1996; 15: 148-53
17. Weiner ES, Hildebrandt S, Senecal JL, et al. Prognostic significance of anticentromere antibodies and anti-topoisomerase I antibodies in Raynaud's disease. A prospective study. *Arthritis Rheum* 1991; 34: 68-77
18. Fagrell B. Vital microscopy and the pathophysiology of deep venous insufficiency. *Int Angiol* 1995; 14: 18-22
19. Stucker M, Schobe MC, Hoffmann K, et al. Cutaneous microcirculation in skin lesions associated with chronic venous insufficiency. *Dermatol Surg* 1995; 21: 877-82
20. Michoud E, Poensin D, Carpenterier PH. Digitized nailfold capillaroscopy. *VASA* 1994; 23: 35-42
21. Prasad A, Dunnill GS, Mortimer PS, et al. Capillary rarefaction in the forearm skin in essential hypertension. *J Hypertens* 1995; 13: 265-8
22. Boss C, Schneuwly P, Mahler F. Evaluation and clinical application of the flying spot method in clinical nailfold capillary TV-microscopy. *Int J Microcirc Clin Exp* 1987; 6: 15-23
23. Gasser P, Buhler FR. Nailfold microcirculation in normotensive and essential hypertensive subjects, as assessed by video-microscopy. *J Hypertens* 1992; 10: 83-6
24. Lemne C, de Faire U, Fagrell B. Mental stress induces different reactions in nutritional and thermoregulatory human skin microcirculation: a study in borderline hypertensives and normotensives. *J Hum Hypertens* 1994; 8: 559-63
25. Ostergren J, Fagrell B. Videophotometric capillaroscopy for evaluating drug effects on skin microcirculation – a double-blind study with nifedipine. *Clin Physiol* 1984; 4: 169-76
26. Ostergren J, Kahan T, Hjemdahl P, et al. Effects of sympathoadrenal activation on the finger microcirculation in mild hypertension. *J Hum Hypertens* 1992; 6: 169-73
27. Weinbacher M, Martina B, Gasser P, et al. Nail fold capillaroscopy and echocardiography in mild-to-moderate hypertension treated with cilazapril plus hydrochlorothiazide: first results. *J Cardiovasc Pharmacol* 1994; 24 Suppl. 3: S83-5

---

Correspondance et réimpression : Pr *Patrick H. Carpenterier*, Laboratoire de Médecine Vasculaire, Université Joseph Fourier, CHU de Grenoble, 38043 Grenoble, France.  
E-mail : patrick.carpentier@ujf-grenoble.fr