

# L'INSTRUMENTATION BIOLOGIQUE ET MÉDICALE

Jean-Marc Lhoste

## RÉFÉRENCES

1. Phelps ME, Maziotta JC. Positron Emission Tomography: human brain function and biochemistry. *Science*, 1985 ; 228 : 799-809.
2. Moonen CTW, Van Zijl PCM, Frank JA, Le Bihan D, Becker ED. Functional Magnetic Resonance Imaging in Medicine and Physiology *Science* 1990 ; 250 : 53-6.
3. Methods in Enzymology, vol. 176 et 177. In : Oppenheimer WJ, James TL, eds. Nuclear Magnetic Resonance. Part A and B. Academic Press, 1989.
4. Handerson R, Baldwin JM, Ceskat A. et al. Model for the Structure of Bacteriorhodopsin Based on High Resolution Electron Cryomicroscopy. *J Mol Biol* 1990 ; 213 : 899-929.
5. Downing KH. Spot scan imaging in transmission electron microscopy. *Science* 1991 ; 251 : 53-9.
6. Pool R. The Children of the STM. *Science* 1990 ; 247 : 634-6.
7. Burlingame AL, Maltby D, Russell DH, et al. Mass spectroscopy. *Anal Chem* 1988 ; 60 : 294R-342R.

## ADRESSE ET TIRÉS À PART

J.M. Lhoste : directeur de recherche de l'Inserm U.219. Institut Curie, Orsay et département de biologie cellulaire et moléculaire du CEA, Saclay, France.

La place de l'instrumentation dans la recherche biologique comme à l'hôpital s'est considérablement accrue au cours de cette décennie. Cette croissance, qualitative et quantitative, correspond autant à l'amélioration très sensible de méthodes anciennes d'analyse et d'exploration qu'à des innovations majeures, partant parfois de principes physiques nouveaux.

Une large part de ces progrès est liée à ceux de l'informatique et de ses filles, l'automatique et la robotique. Avec l'électronique numérique, elles permettent le pilotage en temps réel d'expériences complexes, l'acquisition, le transfert et le traitement de masses considérables de données. Enfin, les techniques graphiques en permettent une exploitation très interactive dans laquelle la couleur ajoute une dimension supplémentaire à l'écran. Des plateaux techniques au lit du malade, l'hôpital a été ainsi transformé par l'automatisation des analyses, les développements des imageries et le monitoring des grandes fonctions physiologiques. Le chercheur biologiste a appris à dialoguer quotidiennement avec ses appareillages à travers microprocesseurs et ordinateurs. L'entrée de la *big science* dans la biologie est effective ou proche du séquençage des génomes aux nouvelles méthodes de détermination des structures moléculaires que nous rapporte Bernard Jacrot dans ce numéro de *médecine/sciences*.

Tous les domaines de la biologie et de la médecine ont bénéficié de cette révolution de l'instrumentation, mais c'est probablement l'observation des structures et des formes tridimensionnelles, du niveau moléculaire à l'imagerie anatomique, qui a réalisé les progrès les plus spectaculaires.

L'imagerie médicale est effectivement devenue tridimensionnelle, mais aussi fonctionnelle et interventionnelle. Tridimensionnelle, elle l'était déjà devenue lorsque le scanner a remplacé les projections de la radiologie conventionnelle par des coupes précisément positionnées dans le corps humain ; l'informatique était déjà à l'origine de ce progrès en permettant des reconstructions à partir de projections. Mais la physique a offert à l'homme « transparent » une fenêtre nouvelle dans le spectre électromagnétique à l'opposé des rayons durs, X pour la radiologie ou  $\gamma$  pour la médecine nucléaire, les ondes radiofréquences, métriques (ce sont celles de la bande FM de notre « transistor »), ont permis l'utilisation d'un phénomène totalement nouveau pour l'imagerie, la résonance magnétique nucléaire. Le succès de cette imagerie par résonance magnétique (IRM) est total : moins de dix années pour sa proposition, son développement, son industrialisation, son évaluation médicale et sa diffusion (voir *m/s* n° 3, vol. 2, mars 1986). L'IRM est un fait majeur pour la médecine et la santé publique, malgré son coût. Avec plusieurs milliers de machines fonctionnant dans le monde, mais malheureusement une cinquantaine en France, et des perspectives apparemment illimitées avec la nouvelle génération d'appareils plus efficaces, plus spécialisés et moins onéreux, l'IRM a bouleversé l'industrie mondiale de l'imagerie. Son principe nouveau de reconstitution d'images, sans élément optique ou mécanique, par codage en fréquence de l'espace par des champs magnétiques, lui permet une exploration tridimensionnelle directe, avec des contrastes tissulaires importants liés aux propriétés moléculaires des régions du corps humain qu'elle explore.

L'imagerie est devenue fonctionnelle et peut utiliser la troisième dimension d'une coupe de repérage anatomique pour explorer un paramètre moléculaire ou physiologique : imagerie spectrale en IRM qui ajoute une dimen-

sion spectroscopique moléculaire, biochimique, à l'image anatomique ; tomographie par émission de positons [1] pour l'exploration du métabolisme respiratoire cérébral ou cardiaque ou l'étude des récepteurs des neurotransmetteurs, des hormones ou des médicaments dans le cerveau ; imagerie de flux vasculaires, s'ajoutant à l'angiographie conventionnelle ou numérique, par vélocimétrie Doppler ultrasonore (capable d'accéder jusqu'au cerveau du fœtus) ou par IRM [2] (capable de distinguer la circulation vasculaire, la perfusion tissulaire et la diffusion moléculaire de l'eau dans les cellules).

L'imagerie en temps réel, dans cet espace à trois dimensions, peut s'associer directement à l'acte thérapeutique. On ne peut citer que quelques exemples quotidiens ou futurs de cette imagerie interventionnelle : traitement des lithiases rénales ou hépatiques par ultrasons ou impacts laser, angioplastie, microchirurgie robotisée stéréotaxique du cerveau, association directe de l'imagerie et de la radiothérapie que permettrait l'utilisation de faisceaux d'ions radioactifs associée à la tomographie par émission de positons (Projet EULIMA. *European light ions for medical accelerator*).

C'est encore la résonance magnétique nucléaire qui a apporté une innovation majeure dans la détermination des structures des macromolécules biologiques, principalement des protéines et des acides nucléiques, jusqu'à des masses moléculaires de 10 à 15 kilodaltons [3]. Cette innovation, très rapidement diffusée représente la possibilité d'établir une structure à la résolution atomique sur un échantillon en solution. On se libère ainsi de la nécessité de la cristallisation, contrainte sérieuse de la méthode de diffraction de rayons X. Ce succès doit beaucoup à l'informatique puisque la méthode de RMN par impulsion bidimensionnelle implique des calculs très lourds pour le traitement des signaux par transformation de Fourier, puis pour la modélisation moléculaire. Les développements vers la spectroscopie 3D ou 4D observant simultanément les protons et un autre noyau comme le carbone-13 ou l'azote-15 nous ouvrent l'accès aux protéines plus grosses de 20 à 25 kilodaltons. En

quarante ans, la cristallographie par diffraction de rayons X a permis d'établir la structure de 600 à 800 protéines, jusqu'à celle de virus entiers ou de centres réactionnels photosynthétiques, mais en trois ou quatre ans la RMN en a déjà proposé une centaine ! Les deux méthodes devraient cependant cohabiter harmonieusement, et Bernard Jacrot nous dit ici les progrès considérables de la cristallographie, liés principalement aux nouvelles sources de rayonnement et aux progrès des détecteurs de rayons X. Sa sensibilité encore accrue lui ouvre la dimension cinétique.

Par ailleurs, des méthodes tout à fait nouvelles sont apparues, qui permettent d'établir la structure de protéines insolubles et ne cristallisant pas, comme la plupart des protéines membranaires. Il s'agit, d'une part, de la cristallographie électronique sur cristaux bidimensionnels de protéines déposés sur des films lipidiques. Le succès, après des années d'effort, de cette technique située à la limite de la diffraction et de l'analyse d'images par microscopie électronique est confirmé par la résolution moléculaire obtenue pour la structure de la bactériorhodopsine [4]. Les nouvelles méthodes de préparation des échantillons, de nouvelles techniques de microscopie électronique par balayage [5] (*spot scan*), et de nouveaux algorithmes d'analyse doivent bientôt rendre cette technique moins exceptionnelle. D'autre part, les nouvelles microscopies à balayage par sondes locales [6] (dont la plus connue est la microscopie à effet tunnel, mais qui comportent de nombreuses variantes reposant parfois sur des effets microscopiques, à l'échelle atomique, mal identifiés) ont surpris par la simplicité de leur conception et de leur réalisation et la diversité de leurs applications. Bien adaptées à l'étude des matériaux solides, elles posent encore de difficiles problèmes d'adaptation aux échantillons biologiques et le jour est peut-être encore lointain de leur application proposée au séquençage des acides nucléiques par lecture directe des bases ! Cependant, avec l'amélioration des méthodes de préparation des échantillons associées à des techniques cryogéniques, on peut espérer rapidement obtenir des images de la morphologie de protéines

insolubles et de leurs associations. Ainsi, le grand trou qui existe entre la diffraction des rayons X et la microscopie électronique traditionnelles se comble rapidement.

Les biologistes connaissent les progrès récents de l'instrumentation pour l'analyse cellulaire, exemples d'innovation comme la reconnaissance ou le tri par cytofluorimétrie en flux, très vite vulgarisée, ou de reprise d'un principe ancien, comme la microscopie confocale, rajeunie par le balayage laser et l'informatique et aboutissant ainsi à un véritable « scanner » optique microscopique capable de restituer des images tridimensionnelles des cellules et des tissus. D'autres progrès, aussi importants pour l'avenir, sont moins connus : sait-on que l'instrumentation en spectrométrie de masse [7], avec les techniques d'hybrides associant deux ou plusieurs étages de séparation et les nouvelles sources d'ionisation, permet la détermination de la masse moléculaire de protéines de plusieurs centaines de kilodaltons et bientôt leur séquençage ? On pourrait, enfin, établir un véritable catalogue des multiples techniques d'analyse ou de biologie moléculaire qui ont bénéficié de cette évolution rapide, et principalement de l'informatique et de la robotique. Elles vont changer radicalement la vie des laboratoires et posent déjà le problème de la sous-traitance, en service commun ou commercial, d'opérations répétitives comme le séquençage. Tous ces nouveaux procédés vont obliger à reconsidérer les modes de financement des laboratoires.

En effet, en contrepartie de ses succès, cette explosion de l'instrumentation biologique et médicale pose de nouveaux problèmes d'évaluation et de financement, en santé publique comme au laboratoire, dont on peut regretter qu'ils ne soient pas toujours compensés en France par les réalisations industrielles. Cependant, aux difficultés de notre industrie de l'imagerie, nous pouvons opposer quelques succès, comme celui des sondes d'analyse microscopique, électronique, ionique, Raman ou la microscopie ionique développée à l'ONERA, qui vient de gagner en sensibilité, donc en résolution, un facteur lui offrant un potentiel considérable en biologie cellulaire ■