

# LES RESPIROCYTES

## Un globule rouge artificiel

Conception exploratoire en médecine nanotechnologique

par Robert A. Freitas Jr

([rfreitas@calweb.com](mailto:rfreitas@calweb.com))

Professeur de recherche à l'Institut de fabrication moléculaire (IMM)

Palo Alto, Californie (Etats-Unis d'Amérique)

© Droits de reproduction 1996-1999, Robert A. Freitas Jr.

Tous droits réservés.

Vous pouvez adresser vos commentaires à

[Webmaster@foresight.org](mailto:Webmaster@foresight.org) ou [nanojbl@halcyon.com](mailto:nanojbl@halcyon.com)

Liens

vers la version originale en américain :

<http://www.foresight.org/Nanomedicine/>

vers la nanomédecine :

[www.nanomedecine.com](http://www.nanomedecine.com)

Traduction par Patrick Macé

[f.mace@wanadoo.fr](mailto:f.mace@wanadoo.fr)

## 1. Introduction

La fabrication moléculaire fait augurer le contrôle de la matière au niveau atomique et moléculaire[1-2]. Une de ses implications majeures sera, dans les dix à trente ans, la possibilité de construire des machines de taille micrométrique (un millionième de mètre), composées de pièces nanométriques (un milliardième de mètre). Les sous-ensembles de tels dispositifs comprendront des composants robotiques tels que des bras manipulateurs de 100 nanomètres (nm), des ordinateurs cadencés à 1 gigahertz de 400 nm, des rotors trieurs de 10 nm pour la purification moléculaire des réactifs et des surfaces supérieurement dures et lisses en diamant, au réseau cristallin sans défaut[2].

Une telle technique a des applications médicales évidentes. Elle permettrait aux médecins des interventions précises au niveau cellulaire et moléculaire. Des nanorobots ont été proposés en gériatrie[3], en recherche pharmaceutique [4-5] et pour diagnostiquer les maladies[6-7], empêcher mécaniquement l'artériosclérose[8], suppléer le système immunitaire[9], modifier l'ADN in vivo[10], réparer des dommages causés au cerveau [11] ou aux cellules par des processus "irréversibles"[12] ou par le stockage cryogénique des tissus[1,13-14].

Des descriptions générales de ce que pourraient être des nanomachines médicales ont été publiées[9,14-15] mais personne n'a tenté jusqu'à présent une **conception** exploratoire détaillée en vue d'un résultat précis. La présente étude vise à présenter une telle **conception** préliminaire d'une nanomachine médicale qui parviendrait à un résultat utile : une hématie (globule rouge) artificielle mécanique ou "**respirocyte**".

## 2 Choix préliminaires de définition

La biochimie du transport des gaz respiratoires dans le sang est bien comprise[16]. En bref, l'oxygène et le gaz carbonique (sous-produit majoritaire de la combustion des aliments) sont transportés entre les poumons et les autres tissus principalement par les globules rouges. L'hémoglobine, principale protéine de ces cellules, forme avec l'oxygène l'oxyhémoglobine, composé réversible. Environ 95% de l'oxygène sont transportés sous cette forme, le reste étant dissous dans le plasma. A la température du corps humain, l'hémoglobine d'un litre de sang contient  $200 \text{ cm}^3$  d'oxygène, soit 87 fois plus que le plasma ne peut en transporter ( $2,3 \text{ cm}^3$ ).

Le gaz carbonique se combine également avec les fonctions amines de l'hémoglobine formant la carboxyhémoglobine. 25% du gaz carbonique produit par le métabolisme cellulaire sont transportés sous cette forme, 10% sont dissous dans le plasma et les 65% restants se trouvent dans les globules rouges sous forme d'ions bicarbonates (hydratation du  $\text{CO}_2$ ). La création de la carboxyhémoglobine et des ions carbonates libère des ions hydrogène qui, en l'absence d'hémoglobine, rendraient le sang veineux 800 fois plus acide que le sang artériel. Ceci est évité grâce à l'action tampon et au transport isohydrique assuré par l'hémoglobine. L'excès d'ions hydrogène est ainsi absorbé de manière réversible, principalement à l'intérieur des globules rouges.

Les gaz respiratoires sont fixés et libérés par l'hémoglobine en fonction de leur pression partielle locale (tableau 1). La pression relativement haute en  $\text{O}_2$  dans les poumons favorise la libération du  $\text{CO}_2$ , qui doit être expiré, et le haut niveau de  $\text{CO}_2$  dans les autres tissus aide à la libération de l' $\text{O}_2$  à leur profit.

**Tableau 1.**  
**Pressions partielles des gaz respiratoires in vivo (en mm de Hg)**  
**et saturation de l'hémoglobine en O<sub>2</sub>.**

Place	Pression O <sub>2</sub>	Saturation de Hb à PO <sub>2</sub> (%)	Pression CO <sub>2</sub>	Pression H <sub>2</sub> O	Pression N <sub>2</sub>	Pression totale
Atmosphère	159	100	0,3	0	600,7	760
Air inspiré	158	100	0,3	5,7	596	760
Trachée	150	100	0,3	47	562,7	760
Air expiré	116	99	32	47	565	760
Alvéole pulmonaire	100	98	40	47	573	760
Artères	95	95	40	47	573	755
Veines	40	70	46	47	573	706
Tissus au repos	30	55	50	47	573	700
Tissus au travail	20	33	54	47	573	694

## **2.1 Transporteurs de gaz respiratoires artificiels existants**

On recherche depuis 80 ans des produits artificiels pour transporter l'oxygène. Le premier emploi de solution d'hémoglobine est signalé en 1916 [17]. La commercialisation de substituts efficaces au sang humain représenterait un marché de 5 à 10 milliards de dollars par an [18-19]. Aussi est-ce un champ de recherche actif [20-23]. Les substituts actuels sont soit des formules à base d'hémoglobine soit des émulsions fluorocarbonées.

### **2.1.1 Formules hémoglobinaires**

Quand l'hémoglobine tétramérique est libérée des hématies, elle perd son efficacité de trois façons. Premièrement, elle se dissocie en **dimères** qui sont rapidement éliminés de la circulation par les leucocytes mononucléaires (période de 10 à 30 min) et par les reins (période d'une heure). Deuxièmement, elle fixe plus solidement l'oxygène, qui est moins facilement mis à la disposition des tissus en hypoxie. Troisièmement, pendant le stockage, l'hémoglobine peut être oxydée en méthémoglobine, n'étant pas protégée par la méthémoglobine réductase normalement présente dans les hématies.

Les efforts de modification de l'hémoglobine pour accroître sa durée de vie dans les vaisseaux ont suivi plusieurs chemins. L'hémoglobine (en solution) a été liée (avec elle-même ou avec une macromolécule), polymérisée, modifiée par des techniques de recombinaison de l'ADN, ou placée dans des capsules microscopiques. Cette dernière solution semble la plus prometteuse, puisque l'hémoglobine est chez tous les vertébrés contenue dans des cellules pour maintenir sa stabilité, préserver son fonctionnement et protéger l'hôte de sa toxicité. Chang [24] a indiqué qu'il a fabriqué dès 1957 des microcapsules en lécithine – cholestérol contenant de l'hémoglobine. Hunt [25] a encapsulé l'hémoglobine dans des liposomes en 1983 ; ses "néohématies", de 1 à 1,5 micron, ont montré leur innocuité pour le rein chez le rat mais étaient éliminées sur une période de 5,8 heures. L'hémoglobine encapsulée par des liposomes (microsphères de 0,4 micron) peut être stockée à sec jusqu'à trois mois sans perte de fonction [26] et peut maintenir en vie un rat transfusé à volume constant jusqu'à un pourcentage d'hématocrites de seulement 4% [27]. Par une voie différente, Suslick a utilisé des ultrasons pour compresser environ un million de molécules d'hémoglobine dans des microsphères de 2 microns à noyau creux qui contiennent 50% d'oxygène de plus que les hématies. Le produit, qui reste efficace après six mois de stockage, est au stade des essais préliminaires chez l'animal et l'homme [28].

### 2.1.2 Emulsions fluorocarbonées

Les fluorocarbone offrent une approche simple du transport et de la livraison de l'oxygène qui repose sur une solubilisation physique plutôt que sur une liaison chimique des molécules. Les fluorocarbone liquides retenus pour la préparation de transporteurs d'oxygène injectables sont généralement des molécules à 8-10 atomes de carbone, de poids moléculaire d'environ 450-500 Da. Ils dissolvent 20 à 25 fois plus d'oxygène que l'eau et en délivrent aux tissus un volume égal à celui de la même masse d'hémoglobine. Des souris survivent à l'immersion dans un fluorocarbone où barbote de l'oxygène [29] et des rats respirant un mélange à 95% d'O<sub>2</sub> ont survécu au remplacement total de leur sang [30].

Insolubles dans l'eau, ils sont injectés en émulsions de gouttelettes (0,1 à 0,2 microns) dans une solution physiologique similaire aux émulsions lipidiques utilisées pour la nutrition parentérale. Après opsonisation et phagocytose des gouttelettes, le fluorocarbone est transféré à des transporteurs lipidiques du sang et libéré pendant le passage dans les capillaires pulmonaires. Ainsi les fluorocarbone ne sont pas métabolisés mais exhalés par les poumons en phase vapeur, en 4 à 12 heures pour ce type d'émulsions.

Des préparations commerciales sont disponibles depuis plus de vingt ans et ont été administrées à au moins 2000 patients sous perfusion coronarienne sans effet secondaire significatif.

### 2.1.3 Faiblesses des techniques actuelles

Au moins quatre formules à base d'hémoglobine et un fluorocarbone sont en phase 1 des essais de sécurité et une société a déposé une demande pour un essai d'efficacité [31]. La plupart des substituts aux globules rouges essayés actuellement ont une vie trop courte dans la circulation sanguine pour être utiles dans le traitement de l'anémie chronique et ne sont pas spécifiquement destinés à réguler le gaz carbonique ou l'acidité sanguine. A l'évidence, plusieurs formules d'hémoglobine libre provoquent la vasoconstriction et la réduction de l'oxygénation des tissus [31] ; elle accroîtrait la sensibilité aux infections bactériennes [32] à cause du blocage du système macrophagique [33-35], de l'activation du complément [36], de la production de radicaux libres [37-38] et de la néphrotoxicité [39-41].

Le fluosol, une perfusion fluorocarbonée largement répandue, est approuvée par l'administration fédérale de l'alimentation et des médicaments (FDA) dans le cas de patients à haut risque de complications ischémiques pendant les angioplasties coronariennes percutanées transluminales. Mais son emploi expérimental dans le traitement d'anémies sévères a été décevant et ne peut encore être recommandé [42]. La limitation physiologique majeure est que la dissolution de l'oxygène est une fonction linéaire de la pression partielle : la délivrance de quantités significatives d'O<sub>2</sub> suppose de le respirer longtemps à des concentrations élevées, potentiellement toxiques.

## 2.2 **Conception nanotechnologique de transporteurs de gaz respiratoires**

C'est Richard P. Feynmann, prix Nobel de physique, qui parla le premier de nanotechnologie en décembre 1959, au cours d'une conférence où il lança également un défi "impossible" doté d'un prix de 1000 dollars afin d'éperonner l'intérêt pour ce nouveau domaine : la construction d'un moteur électrique tenant dans un cube de 6,35 mm d'arête[43]. Onze mois plus tard, l'ingénieur William McLellan remporta le prix en construisant un moteur de 250 milligrammes tournant à 2000 tours/min, fait de 13 pièces [44]. Aujourd'hui, le prix Feynmann de 250 000 dollars que propose le Foresight Institute (Institut de la prospective) attend l'ingénieur qui construira un bras robotisé nanométrique [45].

Les succès des recherches sur la voie menant à la technologie moléculaire fleurissent sur des chemins si variés que seuls quelques repères peuvent être mentionnés ici. Un microscope à balayage à effet tunnel fut employé en 1989 pour écrire les lettres IBM avec 35 atomes de

xénon sur une surface de nickel [46]. Des microscopes à force atomique ont réalisé des opérations nanomécaniques sur des cristaux planars d'oxyde de molybdène MoO<sub>3</sub>. En appliquant 100 nanoNewton à l'extrémité, deux encoches et une pièce mobile de 50 nm furent taillées dans un cristal puis la pièce mobile fut glissée plusieurs fois d'une encoche à l'autre, réalisant un verrou mécanique réversible [47] ; les microscopes à force atomique peuvent fraiser des structures de 10 nm. Ils ont aussi permis d'identifier et manipuler des nucléotides sur des rubans d'ADN étalés[48-49].

Les chimistes ont construit un grand nombre de nanopieces rigides potentiellement utiles dont des tiges, anneaux, ressorts, cubes, sphères, tétraèdres, tubes, hélices, pinces[50] et des structures en fil-de-fer de différentes formes faites d'ADN polymérisé [51-52]. Ils ont commencé à expérimenter des prêts-à-monter ("kits") moléculaires [53]. Ils ont aussi fabriqué des assemblages à plusieurs nanopieces capables d'auto-organisation comme les navettes moléculaires de "rotaxane" qui vont et viennent 500 fois par seconde à la manière d'un boulier moléculaire [54] et des N-caténanes [55], séries de cinq anneaux (5 nanopieces) entrelacés d'environ 75 atomes chacun, arrangés comme le symbole olympique pour donner la plus grande molécule entrelacée mécaniquement synthétisée à ce jour. Jean-Marie Lehn, prix Nobel de chimie, a passé en revue les récents progrès des dispositifs supra-moléculaires, de l'auto-organisation supra-moléculaire et des systèmes chimiques programmés [56].

Sur le chemin de la miniaturisation, la recherche sur les systèmes micro-électro-mécaniques a produit des accéléromètres de 100 microns, des valves, des pistons, des trains d'engrenage et des moteurs piézo-électriques disponibles aujourd'hui en grandes quantités ; des micropinces pour manipuler des sphères de polystyrène de 2,7 microns, des globules rouges et divers protozoaires [57] ; ou encore une voiture au 1/1000 large de 2,8 mm, avec son moteur, ses roues dont la roue de secours, sa carrosserie, les pare-chocs et même une plaque d'immatriculation de 10 microns d'épaisseur [58].

L'aptitude à usiner avec précision des machines microniques étant pour bientôt, on peut imaginer une usine chimique microscopique complète[59], qui évite les défauts de la technologie actuelle du sang artificiel et simule la majorité des fonctions biochimiques de l'hématie. Ce projet novateur exige pour être approprié le système le plus simple remplissant la tâche désirée.

### 2.2.1 Capsule pressurisée

Etant donné que le but est de transporter de l'oxygène des poumons vers les autres tissus/organes du corps, la conception la plus simple est une microcapsule pressurisée, la plus compacte possible, donc sphérique.

La plupart des projets de nanostructures durables emploient les matériaux les plus solides comme le diamant ou le saphir sans défaut, construits atome par atome. Leur module de Young est de 10<sup>12</sup> N/m<sup>2</sup> (10<sup>5</sup> atmosphères) [2] et une prudente tension de travail se limiterait à 10<sup>10</sup> N/m<sup>2</sup> (un cinquième de la limite d'élasticité). La capacité de stockage du réservoir est donnée par l'équation de Van der Waals qui tient compte de la taille finie des molécules fortement serrées et des forces intermoléculaires aux hautes densités :

$$P = [nRT/V(V-nB)] - [An^2/V^2]$$

Avec P en atmosphères, n en moles de gaz, R= 8,206 x 10<sup>-5</sup> m<sup>3</sup> -atm/mole-°K, T = 310°K (température du corps humain), V en m<sup>3</sup> et les constantes A et B déterminées expérimentalement pour chaque gaz. Le tableau n°2 montre un gain significatif de densité des molécules jusqu'à 1000 atm, des gains plus faibles à 10 000 atm et insignifiants au-delà de 100 000 atm. Le risque de rupture et l'énergie explosive augmentant avec la pression, une pression maximum de service de 1000 atm semble optimale, permettant une haute densité de stockage et une marge de sécurité structurale très large (de 100 fois). Par comparaison, le

globule rouge stocke l'oxygène à une pression équivalent à 0,51 atm, dont 0,13 atm sont disponibles pour les tissus.

**Tableau 2 : Densité de compression des gaz d'après l'équation de Van der Waals**

Pression appliquée	10 <sup>26</sup> molécules O <sub>2</sub> /m <sup>3</sup>	10 <sup>26</sup> molécules CO <sub>2</sub> /m <sup>3</sup>	10 <sup>26</sup> molécules N <sub>2</sub> /m <sup>3</sup>
Maximum géométrique	2 260	1 120	2 040
Transition solide/liquide	268	213	220
>=100 000 atm	189	141	153
10 000 atm	177	134	145
1 000 atm	126	111	106
100 atm	25,5	68,9	24,5
10 atm	2,38	2,47	2,38
A (m <sup>6</sup> -atm/mole <sup>2</sup> )	1,36x10 <sup>-6</sup>	3,59x10 <sup>-6</sup>	1,39x10 <sup>-6</sup>
B (m <sup>3</sup> /mole)	3,18x10 <sup>-5</sup>	4,27x10 <sup>-5</sup>	3,91x10 <sup>-5</sup>

Dans le cas le plus simple, la livraison de l'oxygène pourrait être continue à travers tout le corps [9]. Un système légèrement plus sophistiqué tiendrait compte de la pression partielle d'oxygène locale et délivrerait le gaz soit par une soupape à pointeau [60](comme dans les détendeurs sous-marins) contrôlée par une protéine sanguine qui réagit à l'hypoxie [61] ou par diffusion via une chambre basse pression dans un agrégat dense de molécules pseudo-sanguines enfermées dans une cage de fullerènes perméable aux gaz du milieu et aux molécules d'eau., ou encore à l'aide de rotors trieurs de molécules. (§ 2.2.2).

Ces propositions simples ont deux défauts principaux. D'abord, le dispositif devient inutile une fois déchargé. Comme avec les substituts du sang, le délai de délivrance est trop faible. En l'absence de globules rouges, l'oxygène contenu dans une injection de 1 cm<sup>3</sup> de microréservoirs à 1000 atmosphères serait épuisé en deux minutes. Ensuite, ces propositions impliquent l'installation de nombreux émetteurs d'O<sub>2</sub> à travers tout le système capillaire, conjugués avec la population des globules rouges. Ces émetteurs supplémentaires sont équivalents à des globules rouges dont les fonctions de régulation de l'acidité et de transport du CO<sub>2</sub> ont été supprimées. Leur addition au sang déplace l'équilibre gazeux sanguin vers une tension de CO<sub>2</sub> supérieure et une concentration élevée en ions hydrogène : ceci conduirait au seuil de toxicité du gaz carbonique et à une acidose (hypercapnie), spécialement chez des patients anémiques, en apnée ou ischémiques et à une hémolyse hyperoxique et d'autres complications.

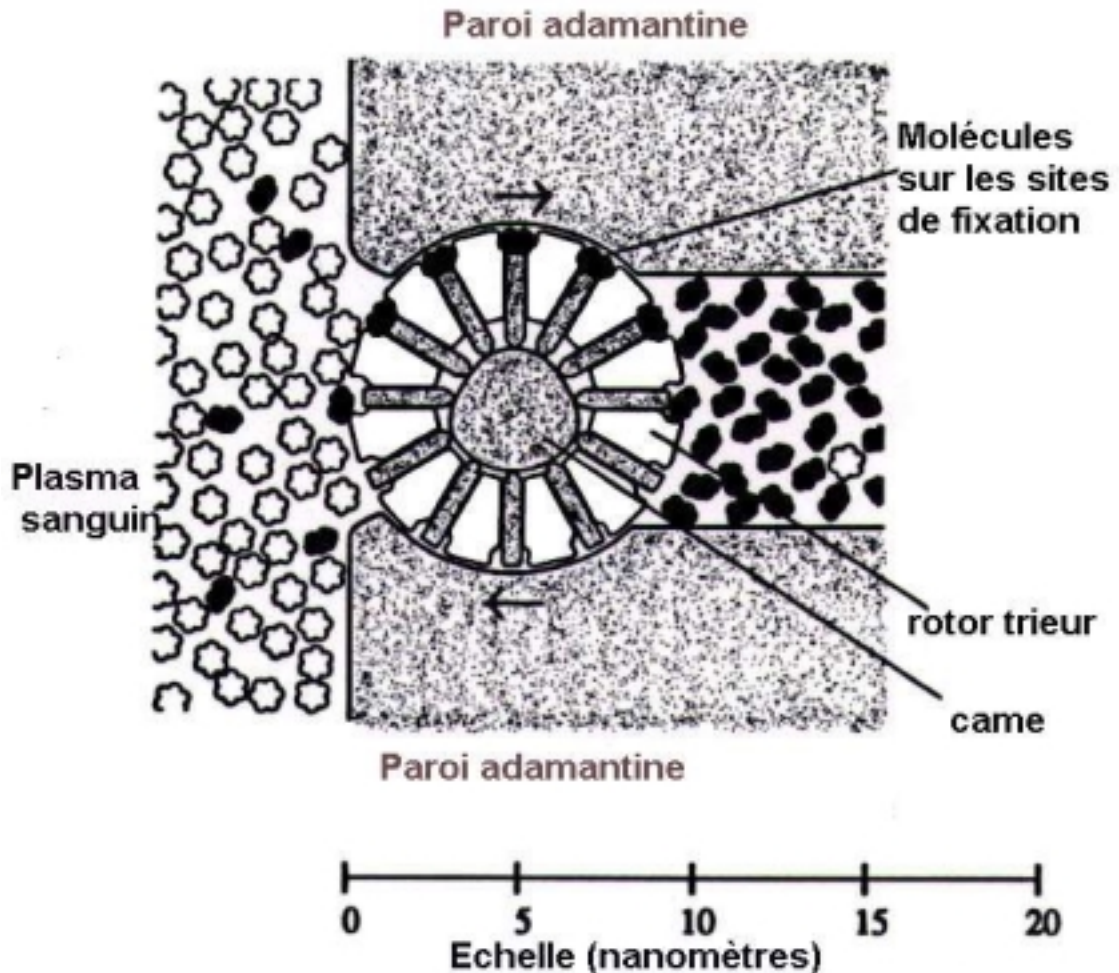
Aucun de ces problèmes ne sera résolu par des systèmes passifs. La façon la plus simple d'augmenter la durée est de permettre le rechargement des capsules en oxygène, de préférence dans les poumons, la régénération de l'oxygène à partir du CO<sub>2</sub> exigeant trop d'énergie. Pour éviter l'intoxication au CO<sub>2</sub>, il suffit de prévoir une capacité de transport additionnelle de ce gaz qui le chargerait dans les tissus et le déchargerait dans les poumons. Notons que le CO<sub>2</sub> stocké physiquement n'ajoute pas à l'acidité sanguine. En l'absence de globules rouges, les respirocytes généreraient peu d'acidité liée au CO<sub>2</sub>. A eux seuls, les reins pourraient probablement maintenir le pH du sang dans la norme.

### 2.2.2 Rotors trieurs de molécules

Le succès du respirocyte passe par un moyen actif de faire entrer et sortir de la capsule pressurisée les molécules gazeuses. Des rotors trieurs de molécules ont été décrits qui rempliraient au mieux cette tâche. (figure 1). Chaque rotor porte à sa périphérie des "poches" de fixation mises successivement au contact du plasma sanguin et de la chambre intérieure par la rotation du disque. Chaque poche fixe sélectivement une molécule quand elle est au contact

du plasma. Une fois le site amené par rotation devant la chambre intérieure, les molécules qui y sont liées sont éjectées de force dans la chambre par la tige que manœuvre la came.

**Figure 1 Rotor trieur de molécules (modifié d'après Drexler)**



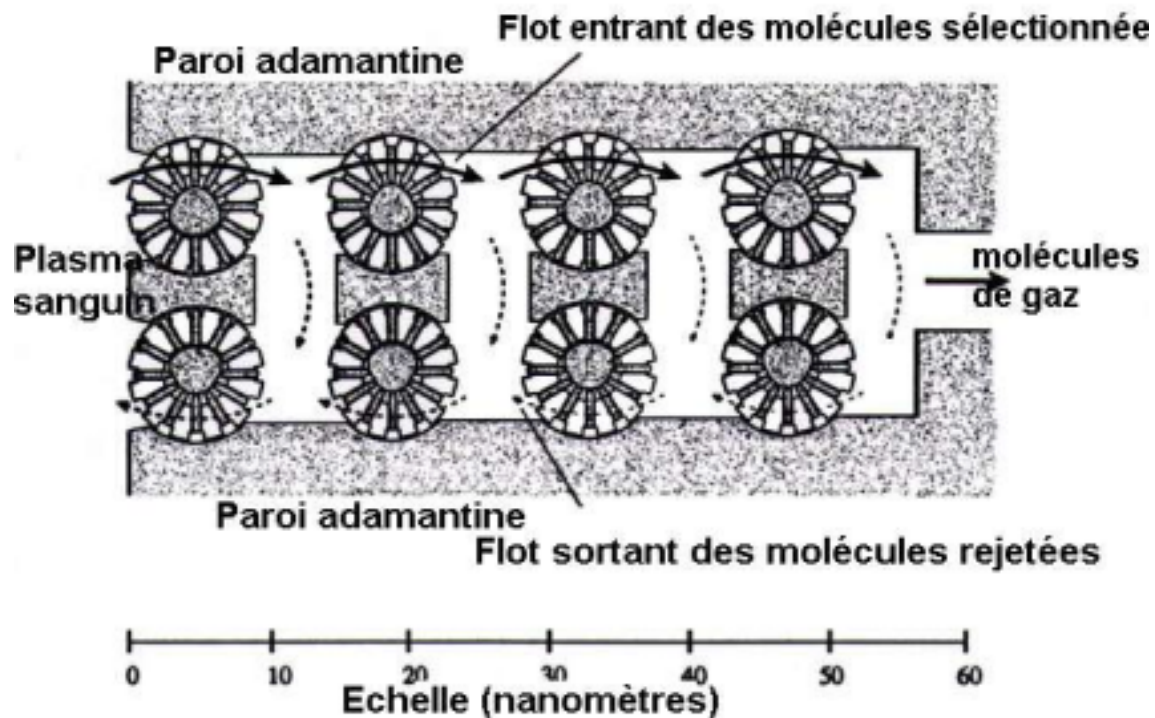
Les rotors peuvent être constitués d'environ  $10^5$  atomes (y compris le logement) et mesurer en gros  $7 \times 14 \text{ nm}$  pour une masse de  $2 \times 10^{-21}$  kg. Ces dispositifs pourraient trier les molécules de vingt atomes ou moins à la vitesse de  $10^{16}$  molécules/s dans un flux laminaire, avec une dépense énergétique de  $10^{-22}$  joule/molécule triée. Les rotors sont entièrement réversibles de sorte qu'ils peuvent remplir ou vider les réservoirs à gaz, selon le sens de rotation. Il devrait être possible de récupérer la plus grande part de l'énergie de triage en ajoutant un sous-système générateur ou grâce à un engrenage différentiel compressant un gaz avec l'énergie de décompression de l'autre. Bien qu'elles réduisent le besoin d'énergie d'un facteur 10 à 100, aucune de ces pistes n'a été suivie dans le présent projet car la source d'énergie –le glucose– est abondante.

La concentration normale dans le sang des molécules qui nous intéressent ( $\text{O}_2$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{N}_2$  et glucose) est de  $10^{-4}$ , ce qui suffit à assurer au moins 90% d'occupation des sites de fixation à la vitesse de rotation prévue [2]. Chaque étage peut raisonnablement assurer un facteur de concentration de 1 000 et une cascade d'étages (figure 2) devrait garantir le stockage de gaz quasiment purs. Comme chacun des 12 bras des rotors videurs supporte des sites pour 12 molécules d'impuretés différentes, le nombre de ces rotors dans tout le système peut

probablement être réduit à une petite fraction de celui des rotors remplisseurs.



Figure 2 Cascade de rotors trieurs (modifié d'après Drexler)



### 2.2.3 Sites de fixation des molécules

Les récepteurs de sites de fixation pour molécules spécifiques doivent être extrêmement fiables (affinité et spécificité fortes) et résister à de longues expositions au milieu sanguin aqueux. Voici des exemples de récepteurs bien connus dont l'étude fournirait des configurations utiles pour cette application.

Les pigments transportant l'oxygène sont des protéines conjuguées, c'est à dire des protéines associées soit à une autre molécule organique soit à un ou plusieurs atomes métalliques.  $\text{Cu}^{2+}$  et  $\text{Fe}^{3+}$  forment des sites de liaison réversibles pour l'oxygène. A côté de l'hémoglobine (de masse moléculaire 68 000) et de la myoglobine (17 KDa) existent d'autres pigments respiratoires naturels comme l'hémocyanine [62-63], pigment bleu à base de cuivre rencontré chez des mollusques et crustacés et la chlorocruorine [63] (3 000 KDa), pigment ferreux vert des vers polychètes qui n'ont tous deux que 25% de l'efficacité de l'hémoglobine pour le transport de l'oxygène ; un pigment pourpre ferreux trouvé dans des mollusques et vers (100 KDa), ayant 10% de l'efficacité de l'hémoglobine ; le chromagène au vanadium [65], pigment trouvé dans le sang des couteaux, des ascidies et des tuniciers ; les variétés vert-pomme, bleu et orange, sont dues à la présence de différents oxydes de vanadium [66].

Des molécules artificielles fixant l'oxygène ont également été étudiées, dont des porphyrines à base de cobalt comme la coboglobine (analogue à l'hémoglobine à base de cobalt) et la cobaltodihistidine [67-71], d'autres porphyrines métalliques [67, 72-73], des composés simples de fer et d'indigo [74], des complexes d'iridium comme le chloro-carbonyl-di (triphenylphosphine)-iridium [75-76], un simple complexe cobalt-ammoniac [67], le chrome divalent lié à une zéolite [77], des complexes à base de fer lacunaire non porphyrique [78] et le NADPH liée à un hème [79]. Des capteurs d'oxygène implantables comme le surveillant hémodynamique de Medtronic's sont déjà en essais cliniques. A la différence de l'hémoglobine, l'hémocyanine, l'hémérythrine et la coboglobine ne sont pas empoisonnées par le monoxyde d'azote ; les respirocytes ne le seront pas non plus.



De nombreuses enzymes et protéines ont des sites de fixation du gaz carbonique. Par exemple, l'hémoglobine fixe de façon réversible le CO<sub>2</sub>, formant la carboxyhémoglobine. Une enzyme à base de zinc, présente dans les globules rouges, l'anhydrase carbonique [16], catalyse l'hydratation du CO<sub>2</sub> dissous en ion bicarbonate : il a donc des récepteurs de ce gaz et de l'eau. Le premier pas de la photosynthèse chlorophyllienne, dans lequel le CO<sub>2</sub> est ajouté à un sucre à cinq carbones, est catalysé par la ribulose diphosphate carboxylase (RuBisCo), probablement l'enzyme la plus abondante au monde car elle est responsable de plus de la moitié des protéines solubles de chaque feuille verte sur la Terre [80](cette enzyme a de fait deux sites séparés de fixation du CO<sub>2</sub> et un troisième (oxygénase) qui fixe l'O<sub>2</sub>). Beaucoup de molécules fixent l'eau de manière réversible, y compris une grande variété de cristaux déliquescents, de minéraux efflorescents, d'acides aminés hydrophiles et polaires et de nombreuses enzymes comme l'anhydrase carbonique, les hydrolases et déshydratases [16]. Les sites de liaisons pour le glucose sont communs dans la nature. Par exemple, le métabolisme énergétique de la cellule commence par la conversion du glucose à six carbones en deux fragments à trois carbones (pyruvate ou lactate), premier stade de la glycolyse. Elle est catalysée par l'hexokinase, une enzyme qui a des sites de liaison à la fois pour le glucose et l'ADP. On trouve également couramment dans les cellules un transporteur du glucose, qui déplace ce sucre à travers les membranes grâce à ses nombreux sites de fixation [81-82]. D'autres protéines fixent le glucose dans les intestins [80], le foie [16], le rein, le tissu adipeux et ailleurs. Des capteurs de glucose implantables ont été développés par Becton, Dickinson Inc, par l'université d'Osaka au Japon et d'autres encore. Enfin, certains micro-organismes, dont le *Rhizobium* trouvé sur les racines de légumineuses, quelques bactéries du sol vivant librement comme *Azotobacter* et un petit nombre d'espèces d'algues bleu-vertes comme *Anabaena cylindrica*, fixent l'azote atmosphérique grâce à un complexe d'enzymes appelé nitrogénase [80]. Cette nitrogénase est extrêmement labile en présence d'oxygène mais ses sites de fixation de l'azote mériteraient une étude plus poussée. Une fois leur structure et leur fonctionnement connus, les récepteurs (dans toutes les conformations requises) des différents gaz à transporter peuvent être incorporés aux rotors dont les surfaces et les cavités adamantines ont été taillées selon les techniques suggérées par Drexler [2] pour l'assemblage atome par atome, qui comprennent la synthèse mécanique par abrasion ou manipulation, les langages de description de formes et systèmes de conception automatisée.

#### 2.2.4 Echelle du dispositif

La limite supérieure de taille pour le dispositif physique est aisée à fixer puisque les respirocytes doivent accéder librement à tous les tissus par les vaisseaux sanguins. Ils ne peuvent être plus grands que les capillaires dont le diamètre moyen (8 microns) peut descendre à 3,7 microns [83] –si peu que les globules rouges (des disques biconcaves de 7,82 x 2,58 microns [84]) doivent se plier en deux pour y passer en file indienne.

Si le diamètre des respirocytes diminue, l'aire de la surface par unité de volume croît rapidement. Des cellules plus petites auraient plus de mal à se défendre contre les agressions du milieu et pourraient filtrer à travers de plus nombreuses parois du corps. (Par exemple, les cellules endothéliales du foie, les cellules de Kupffer et l'endothélium fenêtré de la membrane des glomérules du rein filtrent les particules inférieures à 100 nm du sang, mais les cellules de Kupffer du foie phagocytent exclusivement les particules supérieures à cette limite [85]. Ces facteurs plaident en faveur de dispositifs plus grands.

Le diamètre minimum du respirocyte est commandé par les exigences de son fonctionnement et la taille minimale de ses composants. Par exemple, le plus petit ordinateur exige raisonnablement 10<sup>5</sup> nm<sup>3</sup>, une sphère de 58 nm de diamètre (§ 3.4). De plus, le gaz est chargé par les rotors trieurs montés à la surface d'un réservoir sphérique. Dans la définition de base

(diamètre d'un micron), 37,28% de la surface du réservoir sont occupés par les rotors et les sous-systèmes qui leur sont liés. Le nombre de rotors est en rapport avec le volume du réservoir, donc avec  $R^3$  ; la surface avec  $R^2$ . Ainsi le pourcentage de surface occupée par les rotors (ratio rotor/surface ou RRS) est une fonction linéaire de  $R$  (RRS peu différent de  $qD$ , avec  $q = 0,3728$ , fraction de surface couverte). Le RRS vaut 1 (100%) pour  $D = 2,68$  microns, ce qui est la limite supérieure. Une revue prudente de la conception de base suggère que la surface minimum de rotors pour répondre à toutes les spécifications en maintenant une redondance des sous-systèmes de 10:1 (§ 3.5) est de l'ordre de  $17\,000\text{ nm}^2$ , ce qui implique  $d = 0,245$  micron avec  $RRS = 0,0902$  (0,02%). En excluant toute redondance, la surface des rotors est ramenée à  $1700\text{ nm}^2$ , d'où  $D = 0,014$  micron avec  $RRS = 0,0412$  (4,12%). Ces considérations suggèrent une plage de diamètre de 0,2 à 2 microns ; la présente étude retient une valeur proche de 1 micron.

### 2.2.5 Contrôle de la flottabilité par ballast (à eau)

Un autre problème soulevé par le travail dans un milieu aqueux est la flottabilité, qui peut être facilement contrôlée par le remplissage de ballasts avec de l'eau. Plus le respirocyte est petit, plus il reste en suspension comme l'indique la loi de Navier Stokes :

$$V_t = 2gR^2(\rho_1 - \rho_2)/9\eta$$

Avec  $V_t$  la vitesse terminale en cm/s,  $g$  l'accélération de la pesanteur ( $981\text{ cm/s}^2$ ),  $\rho_1$  et  $\rho_2$  la densité du dispositif et du liquide (en  $\text{g/cm}^3$ ) et  $\eta$  le coefficient de viscosité (1,1 centipoise pour le plasma, 4 centipoises pour le sang complet à  $310^\circ\text{K}$ ).

Un respirocyte d'un micron d'une densité variant de  $679\text{ kg/m}^3$  réservoirs vides à  $1371\text{ kg/m}^3$  réservoirs pleins monterait ou descendrait à un taux maximum de 0,1 à 0,6 mm/heure ; la vitesse de sédimentation pour une particule de 0,1 micron est cent fois plus faible. Par comparaison, même la petite différence de densité entre les globules rouges ( $1100\text{ kg/m}^3$ ) et le plasma sanguin ( $1025\text{ kg/m}^3$ ) provoque la sédimentation à une vitesse de 4 à 10 mm/h, qui dépend du taux d'hématocrite (le pourcentage du sang occupé par les globules rouges, normalement 45%) et du degré d'agrégation des hématies. Celles-ci ne semblent pas gênées par leur vitesse de sédimentation plus rapide, aussi le ballastage des respirocytes (qui se sédimentent plus lentement) est probablement inutile pour les opérations normales).

Une fois un objectif thérapeutique atteint, il peut être souhaitable d'extraire artificiellement les dispositifs de la circulation. Un contrôle par ballast de la flottabilité est extrêmement utile pendant l'extraction des respirocytes du sang. Pendant la nano - aphérèse, le sang à nettoyer peut passer du patient à une centrifugeuse spéciale où des transmetteurs acoustiques (§ 3.2) commandent aux respirocytes de maintenir une pesée neutre. Aucun autre composant solide du sang ne peut maintenir cette neutralité, ils précipitent donc pendant la centrifugation modérée et sont entraînés à part pour être réinjectés dans le plasma à sa sortie de l'appareil. Pendant ce temps le plasma centrifugé qui contient surtout des respirocytes et peu d'autres particules solides en suspension passe à travers un filtre de un micron qui retient les respirocytes. Le plasma est recombinaé avec les autres éléments solides et renvoyé intact au patient. Le taux de séparation est amélioré en commandant aux respirocytes soit de vider tous leurs réservoirs, abaissant leur densité à 66% de celle du plasma soit de souffler une bulle de 5 microns d'oxygène à laquelle ils adhèrent par la tension superficielle, leur permettant de monter à 45 mm/h sous une accélération égale à la gravitation.

## 3 Conception de base

Beaucoup de questions concernant la conception doivent maintenant être étudiées, dont la forme des réservoirs, l'emplacement des rotors et des moteurs à glucose, l'échelle des sous-systèmes et le niveau de redondance requis pour une fiabilité acceptable du système. Les

systèmes centralisés sont moins complexes mais présentent moins de redondance et sont donc moins fiables. La conception finale est un compromis entre beaucoup de facteurs concurrents.

### 3.1 Energie

La puissance embarquée est fournie par un moteur mécano-chimique qui utilise la combinaison exothermique du glucose et de l'oxygène pour créer de l'énergie mécanique ; celle-ci anime les rotors et les autres sous-systèmes selon le principe illustré par divers moteurs biologiques. La conception d'un moteur à glucose –qui pourrait comprendre une turbine balistique entraînée par les projections d'une combustion dans un rotor sous 1000 atmosphères – est un domaine de recherche critique. Drexler [2] estime qu'ils peuvent être conçus pour fonctionner à plus de 99% de rendement. Cependant, étant donné que les métabolismes cellulaires naturels atteignent seulement 68% en utilisant la glycolyse et l'acide tricarboxylique (ATC), nous adoptons pour cette étude un rendement plus prudent de 50%. Les rotors trieurs prélèvent directement le glucose du sang et le stockent dans un réservoir à carburant. L'oxygène est siphonné directement dans les réservoirs à bord.

Le générateur de puissance est dimensionné pour que chaque moteur à glucose puisse remplir le réservoir à O<sub>2</sub> entièrement en dix secondes, ce qui nécessite de fournir une puissance continue maximale de  $3 \times 10^{-13}$  watts. Ce taux de pompage,  $\cong 10^8$  molécules/s pour les gaz n'est pas limité par la diffusion [86] car le courant maximum de diffusion est

$$J = 4 \pi R C D, \cong 10^9 \text{ molécules/s}$$

pour un coefficient de diffusion du gaz  $D \cong 2 \times 10^{-5}$  cm<sup>2</sup>/s pour O<sub>2</sub> et CO<sub>2</sub> dans l'eau distillée à 20°C [87],  $C = 7,3 \times 10^{22}$  molécules/m<sup>3</sup> (sang artériel) et  $R = 0,5$  micron. En prenant l'estimation de Drexler de  $10^9$  W/m<sup>3</sup> pour la conversion de la puissance mécano-chimique [2], un moteur à glucose pourrait mesurer  $42 \times 42 \times 175$  nm et être fait de  $10^8$  atomes ( $\cong 10^{-18}$  kg).

Le réservoir à glucose est dimensionné pour qu'un plein fasse tourner le moteur à pleine puissance pendant dix secondes en consommant 5% de l'oxygène stocké à bord et en produisant un volume d'eau à peu près égal au volume de glucose consommé. Un tel réservoir mesure  $42 \times 42 \times 112$  nm, nécessite moins de  $10^8$  atomes ( $< 10^{-18}$  kg), contient  $10^6$  molécules de glucose et peut être rempli par application de la puissance du moteur pendant un millième de secondes. La transmission de la puissance est mécanique ou hydraulique avec un fluide approprié ; elle peut être distribuée selon les besoins en utilisant des tiges et des trains d'engrenages ou des tuyaux et des valves actionnés mécaniquement, contrôlés par l'ordinateur.

### 3.2 Communications

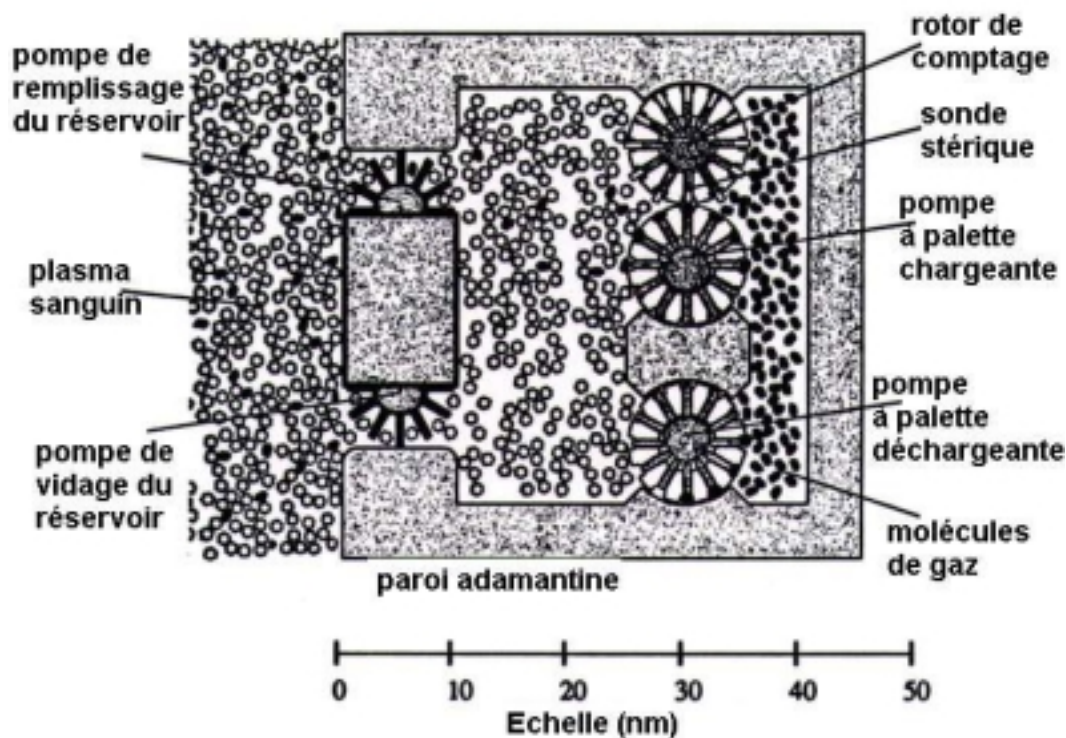
Le médecin traitant peut diffuser des signaux aux systèmes mécaniques moléculaires déployés dans le corps humain, le plus simple étant d'utiliser des impulsions de compression modulées reçues par des transducteurs installés à la surface du respirocyte. Convertir un train d'impulsions de pression en mouvements mécaniques qui peuvent servir de valeurs d'entrée pour un ordinateur mécanique nécessite des transducteurs qui fonctionnent comme des effecteurs mus par la pression. Les mécanismes proposés par Drexler [2] pour transmettre les données à  $< 10$  MHz ( $\cong 10^7$  bits/s) en utilisant des impulsions de pression d'une amplitude de 10 atmosphères (les mêmes que pour l'échographie médicale par ultrason [88]) peuvent faire environ  $21$  nm<sup>3</sup> en taille et compter  $10^5$  atomes ( $\cong 2 \times 10^{-21}$  kg). De tels signaux subissent une atténuation de 10% par cm de trajet : la diffusion du signal à tout le corps devrait être faisable même en situation d'urgence de terrain. Les transducteurs de pression consomment une puissance minimale car le signal d'entrée commande le mouvement. Des senseurs de pression sensibles à des impulsions de 0,1 atm autour du MHz proposés par Merkle [9] ne consomment que  $10^{-20}$  J par impulsion détectée.

Les communications internes au respirocyte peuvent être réalisées en imprimant au fluide hydraulique du système de répartition de la puissance des impulsions acoustiques de faible pression ou par de simples tiges et couplages mécaniques.

### 3.3 Capteurs

Divers capteurs sont nécessaires pour acquérir les données essentielles à la régulation des opérations de chargement et déchargement des gaz, à la gestion du volume du réservoir et à d'autres protocoles spéciaux. Par exemple, les rotors trieurs peuvent être utilisés pour construire des capteurs de concentration quantitatifs pour n'importe quel type de molécule. Un simple dispositif à deux chambres (figure 3 : le collecteur de vidange n'est pas montré) emploie en entrée un rotor trieur tournant à 1% de sa vitesse normale, synchronisé avec un rotor de comptage (relié par des tiges et des cliquets à l'ordinateur) pour mesurer le nombre de molécules d'un gaz donné dans un volume connu de fluide. L'échantillon de fluide est prélevé dans l'environnement et mis dans un réservoir de volume fixe, au rythme de  $10^4$  remplissages par seconde grâce à deux pompes à palettes. Aux concentrations habituelles du sang, ce capteur qui mesure  $45 \times 45 \times 10$  nm et compte environ 500 000 atomes ( $\cong 10^{-20}$  kg), devrait compter par seconde  $\cong 100\ 000$  molécules de glucose, 30 000 de  $\text{CO}_2$  ou 2000 d' $\text{O}_2$ , artériel ou veineux.

Figure 3 : capteur de concentration moléculaire



Il convient également d'inclure des capteurs de pression interne pour contrôler le chargement des réservoirs d' $\text{O}_2$  et  $\text{CO}_2$ , des capteurs d'ouillage<sup>1</sup> pour le ballast et le réservoir à glucose et des thermomètres intérieurs et extérieurs pour aider à contrôler et réguler la production totale d'énergie du système.

<sup>1</sup> ouiller : remplir un tonneau à mesure que le niveau baisse ; ullage (container fullness).

### 3.4 *Calculateur embarqué*

Un ordinateur embarqué est nécessaire pour contrôler précisément le chargement et le déchargement des gaz, la gestion du champ de rotors et le ballast, l'alimentation du moteur à glucose, la distribution de la puissance, l'interprétation des données captées et des ordres reçus de l'extérieur, l'auto-diagnostic, la mise en œuvre de procédures d'arrêt de sécurité et la révision ou correction in vivo des protocoles en cours.

Un ordinateur traitant  $10^4$  bits/s assure probablement tous les besoins en calcul étant donné la simplicité des systèmes de contrôle des réactions chimiques analogiques dans les processus industriels [89-90]. C'est en gros la capacité de calcul d'un ordinateur IBM 1620 à transistors des années 60 ou le cinquantième de la puissance d'un Apple II à microprocesseur de 1976. Tous deux utilisaient  $10^5$  bits de mémoire interne mais même les premiers PC avaient accès à  $10^6$  bits (0,1 Mb) de mémoire externe sur disque souple.

En admettant  $\cong 500$  bits/s/nm<sup>3</sup> et  $10^{18}$  bits/s/W pour les ordinateurs mécaniques, et  $\cong 5$  bits/nm<sup>3</sup> pour les mémoires de masse nanomécaniques [2], chaque unité centrale de  $10^4$  bits/s a un volume de  $\cong 10^4$  nm<sup>3</sup> et consomme  $\cong 10^{-14}$  W (3% de la puissance fournie par un moteur à glucose), cependant que 500 kilobits de mémoire nécessitent  $\cong 10^5$  nm<sup>3</sup>. L'emploi d'une logique réversible réduit significativement la consommation [2,91].

### 3.5 *Configuration de base*

Le respirocyte artificiel est un dispositif nanomédical sphérique de un micron de diamètre. Sa structure est faite de 18 milliards d'atomes précisément arrangés ; il embarque 9 milliards de molécules à pleine charge. La répartition du volume et de la masse a été faite selon les règles suivantes :

- un même volume pour l'O<sub>2</sub> et le CO<sub>2</sub> ;
- des réservoirs à glucose comme indiqué au § 3.1 ;
- le ballast comme variable ;
- la densité du diamant pour toute la structure.

Le système de ballast a été dimensionné pour que la pesée soit nulle avec :

- le ballast plein et les réservoirs à gaz et glucose vides ;
- le ballast vide et les réservoirs à gaz et glucose remplis.

La répartition, générale et détaillée, est indiquée dans les tableaux 3 et 4.

**Tableau 3 : répartition générale des volumes et masses**

Composant	Volume (% du total)	Volume (en m <sup>3</sup> )	Masse mini "à sec" en kg	Masse à pleine charge en kg	Nombre d'atomes ou de molécules
Réservoir à O <sub>2</sub>	22,73	$1,19 \times 10^{-19}$	0	$8,00 \times 10^{-17}$	$1,51 \times 10^9$
Réservoir à CO <sub>2</sub>	22,73	$1,19 \times 10^{-19}$	0	$9,72 \times 10^{-17}$	$1,33 \times 10^9$
Réservoir à glucose	0,46	$2,43 \times 10^{-21}$	0	$3,80 \times 10^{-18}$	$1,27 \times 10^7$
Ballast	34,72	$1,82 \times 10^{-19}$	0	$1,81 \times 10^{-16}$	$6,07 \times 10^9$
Structure	19,36	$1,01 \times 10^{-19}$	$3,56 \times 10^{-16}$	$3,56 \times 10^{-16}$	$1,79 \times 10^{10}$
Total	100	$5,24 \times 10^{-19}$	$3,56 \times 10^{-16}$	$7,18 \times 10^{-16}$	$2,68 \times 10^{10}$

**Tableau 4 : répartition générale des volumes et masses**

Composant	Dimensions en nm	Masse du composant en kg	Nombre. par station	Surface par station en nm <sup>2</sup>	Nombre total de pièces
Ordinateur	≅ 58 (diamètre)	3.51x 10 <sup>-19</sup>			10
Transducteurs de pression	21x21x21	2x 10 <sup>-21</sup>	2	882	24
Rotors trieurs	7x14x14	"	2 430	79 380	29 160
O <sub>2</sub>	"	"	144 x 3 étages	14 112	5 184
CO <sub>2</sub>	"	"	"	"	5 184
H <sub>2</sub> O	"	"	504 x 3 étages	49 392	18 144
Glucose	"	"	18 x 3 étages	2	648
Capteurs externes	14x42x42	≅1x 10 <sup>-20</sup>	24	14 112	288
O <sub>2</sub>	"	"	10	5 880	120
CO <sub>2</sub>	"	"	10	"	120
H <sub>2</sub> O	"	"	2	1 176	24
Glucose	"	"	2	"	24
Température	"	"	2	"	24
Capteurs internes	"	"			150
Réservoir O <sub>2</sub>	"	"			10
à CO <sub>2</sub>	"	"			10
à H <sub>2</sub> O					10
de glucose	"	"	2		24
C; de température	"	"			10
Moteur à glucose	42x42x175	1,46x 10 <sup>-18</sup>	1	1 764	12
Réservoir à glucose	42x42x115	8,01x 10 <sup>-19</sup>	1		12
Tuyaux pour le glucose	7x14x14	2x 10 <sup>-21</sup>	3	294	36
Autres structures					1
Total	1000 (diamètre)			97 603	12

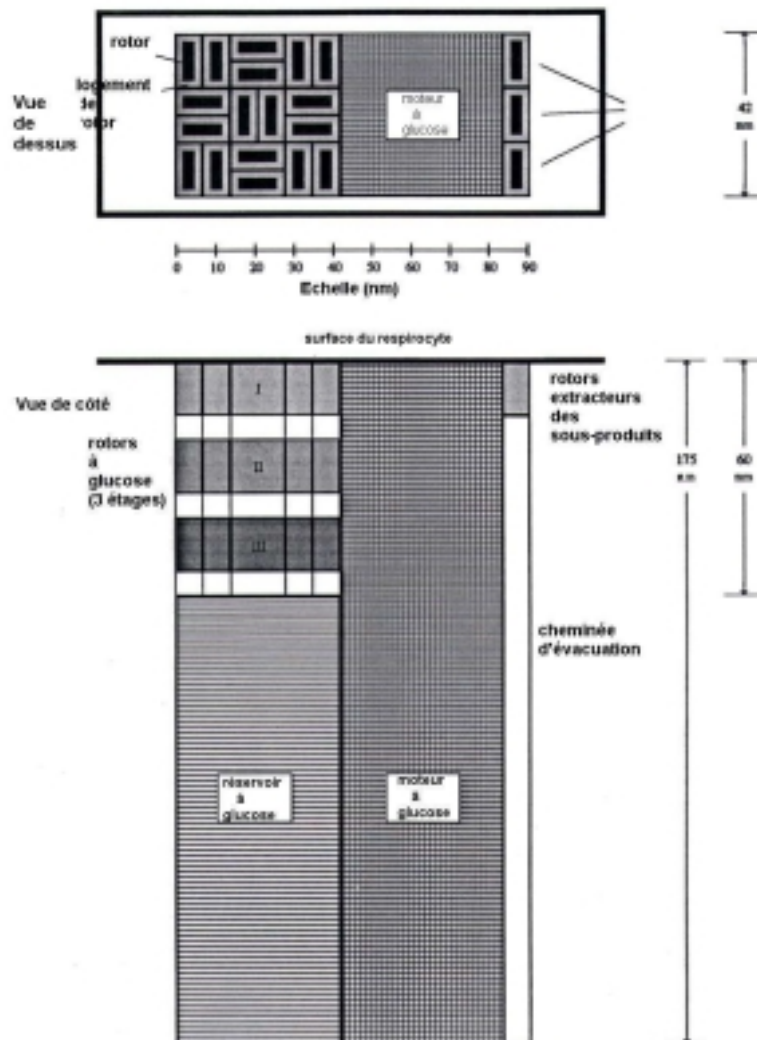
Le système présenté ici a une redondance d'au moins 10 dans toutes ses parties, à l'exception des réservoirs sous pression qui, à cause de leur structure compartimentée, (§ 3.6) peuvent être crédités d'une redondance encore plus grande. Ce nombre suit l'indication de Drexler [2] selon qui une redondance de 10 dans les systèmes nanomécaniques devrait suffire à rendre négligeable le risque de panne.

Douze stations de pompage sont régulièrement réparties sur le cercle équatorial de la capsule. Chaque station a son moteur, son réservoir, ses capteurs et ses rotors à glucose indépendants (figure 4). A elle seule, chaque station peut donner assez d'énergie pour faire fonctionner tout le respirocyte. Des simulations détaillées de fiabilité seront nécessaires pour déterminer s'il est préférable de faire travailler chaque station à son tour, à puissance maximale, toutes ensemble à puissance réduite ou chacune jusqu'à sa panne et son remplacement par la suivante. La transmission de la puissance est hydraulique jusqu'aux sous-systèmes de la station et de proche en proche aux douze lignes de transmission interstations qui permettent à chacune d'alimenter les autres selon le besoin pour déplacer et équilibrer la charge de travail.

Pour une redondance de 10, dix ensembles ordinateur-mémoire de masse occupent au centre du dispositif  $10^6 \text{ nm}^3$ . Cet emplacement offre le maximum de protection contre les agressions du milieu et un accès centralisé à tous les composants de surface, dont les voies de communications, les capteurs extérieurs et la fourniture répartie de l'énergie.

Chaque station de pompage a une zone d'ensemble à trois étages de rotors trieurs pour pomper l'oxygène, le gaz carbonique et l'eau dans le milieu ambiant ou dans les réservoirs. Le nombre de trieurs à rotor dans chaque zone est déterminé à la fois par le rendement exigé et par la concentration attendue de la molécule cible dans le flux sanguin (tableau 5). Chaque station de pompage travaillant seule peut charger ou décharger n'importe quel réservoir en 10 secondes (ce qui est le temps normal de transit capillaire dans les tissus, qu'il s'agisse de gaz, d'eau pour le ballast ou de glucose). Les rotors pour le pompage des gaz sont répartis selon une géométrie non-compacte pour réduire le risque d'épuisement local de la molécule pendant le chargement.

Figure 4 : rotor, réservoir, moteur et tubulures à glucose



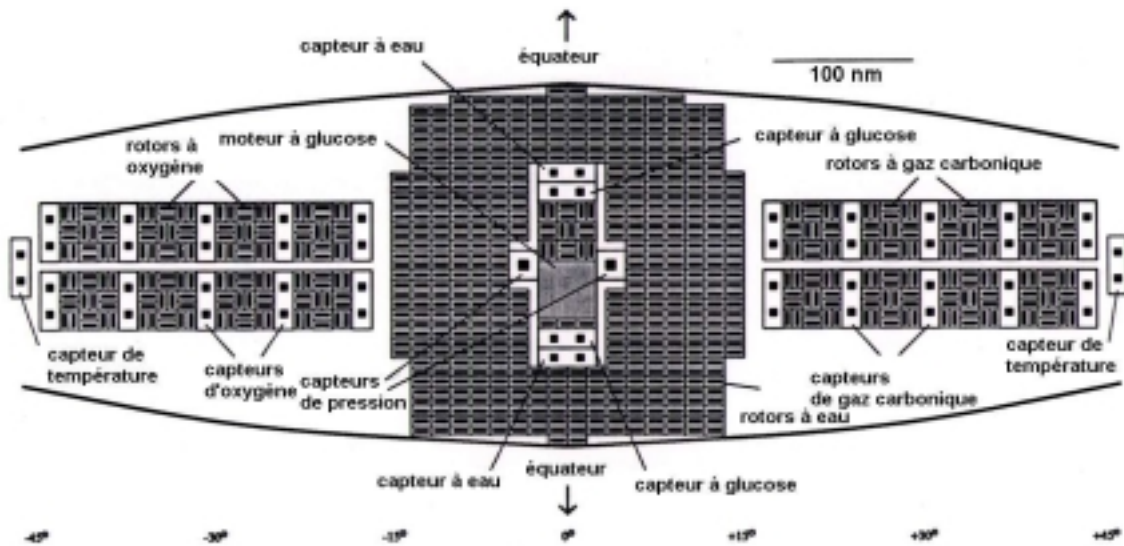


**Tableau 5 : concentration des molécules concernées dans le plasma sanguin**

Molécule	Concentration en molécules / m <sup>3</sup>
O <sub>2</sub> artériel	7,3 x 10 <sup>22</sup>
O <sub>2</sub> veineux	3,0 x 10 <sup>22</sup>
CO <sub>2</sub> artériel	4,1 à 10,8 x 10 <sup>23</sup>
CO <sub>2</sub> veineux	4,5 à 11,4 x 10 <sup>23</sup>
H <sub>2</sub> O du plasma	3,1 x 10 <sup>28</sup>
Glucose	2,3 à 3,5 x 10 <sup>24</sup>
N <sub>2</sub>	2,1 x 10 <sup>23</sup>

**Figure 5 A : Etude d'une station de pompage (occupant un secteur sphérique de 30°)**

La conception permet de prévoir un nombre significatif de rotors excréteurs d'impuretés car les systèmes de pompage de gaz sont étudiés pour une redondance supérieure à 10 qui ne



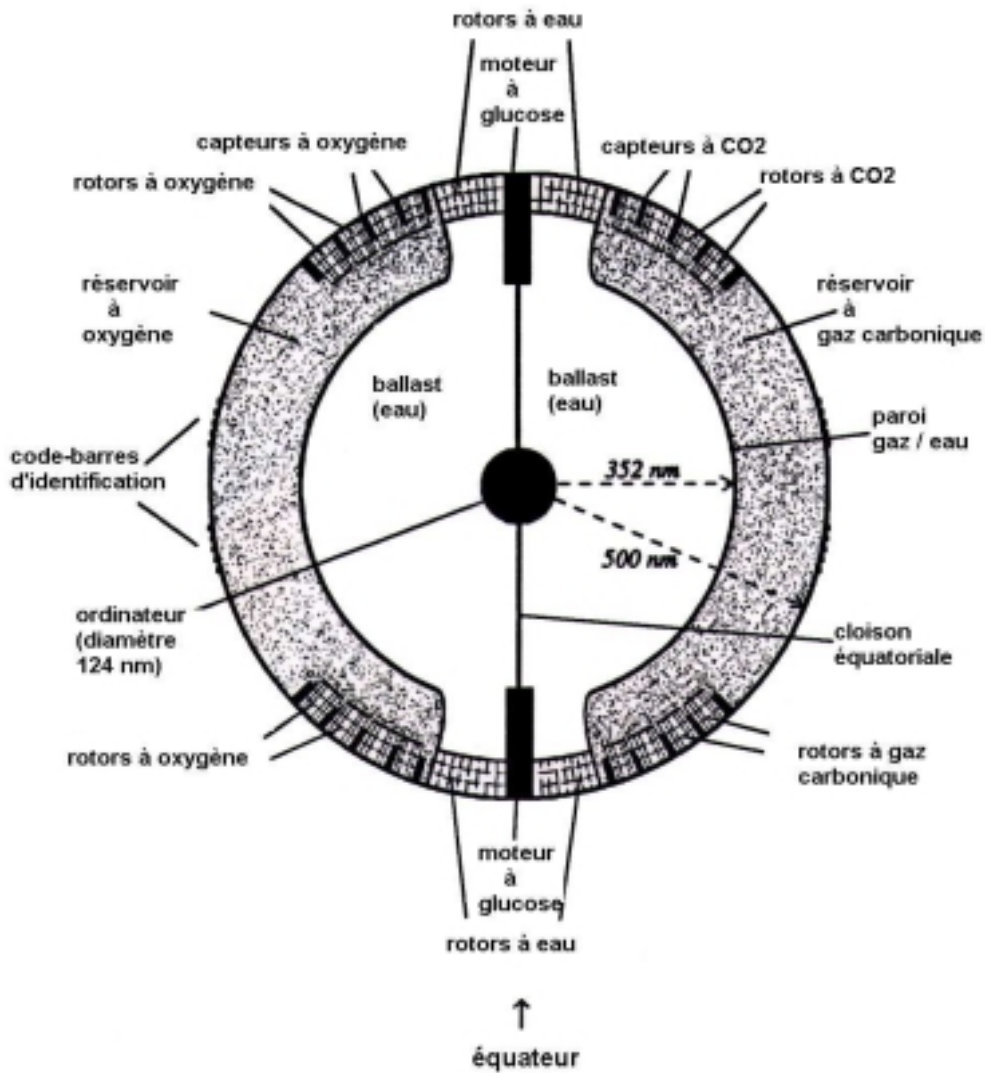
nécessiterait pour l'oxygène que 4 530 rotors : il y en a 5 184 donc 654, soit 12,6%, (54,5 par station) sont inutiles pour atteindre la redondance de 10 et peuvent donc être affectés au rejet des impuretés. Pour le CO<sub>2</sub>, il en faut 3 990 contre 4320 prévus : 330, soit 7,5% (27,5 par station) sont utilisables pour le rejet des impuretés. Les rotors à glucose sont largement surdimensionnés pour assurer la fourniture d'énergie, même chez les patients les plus hypoglycémiques. Alors qu'il n'en faut que 40 pour la redondance de 10, nous en avons 216 : même si la moitié est requise pour le rejet des impuretés, on atteint une redondance de 27,5.

Chaque station comprend aussi trois conduits par moteur à glucose pour l'évacuation du CO<sub>2</sub> et de l'eau produits par la combustion, dix capteurs d'oxygène répartis dans les rotors trieurs de ce gaz pour permettre un contrôle précis si des gradients inhabituels sont détectés, 10 capteurs de CO<sub>2</sub> similaires sur le côté opposé, deux capteurs de température externe (un de chaque côté, le plus loin possible des moteurs à glucose pour garantir des mesures vraies) et deux transducteurs de pression hydraulique pour la réception des signaux de commande envoyés par l'équipe médicale.

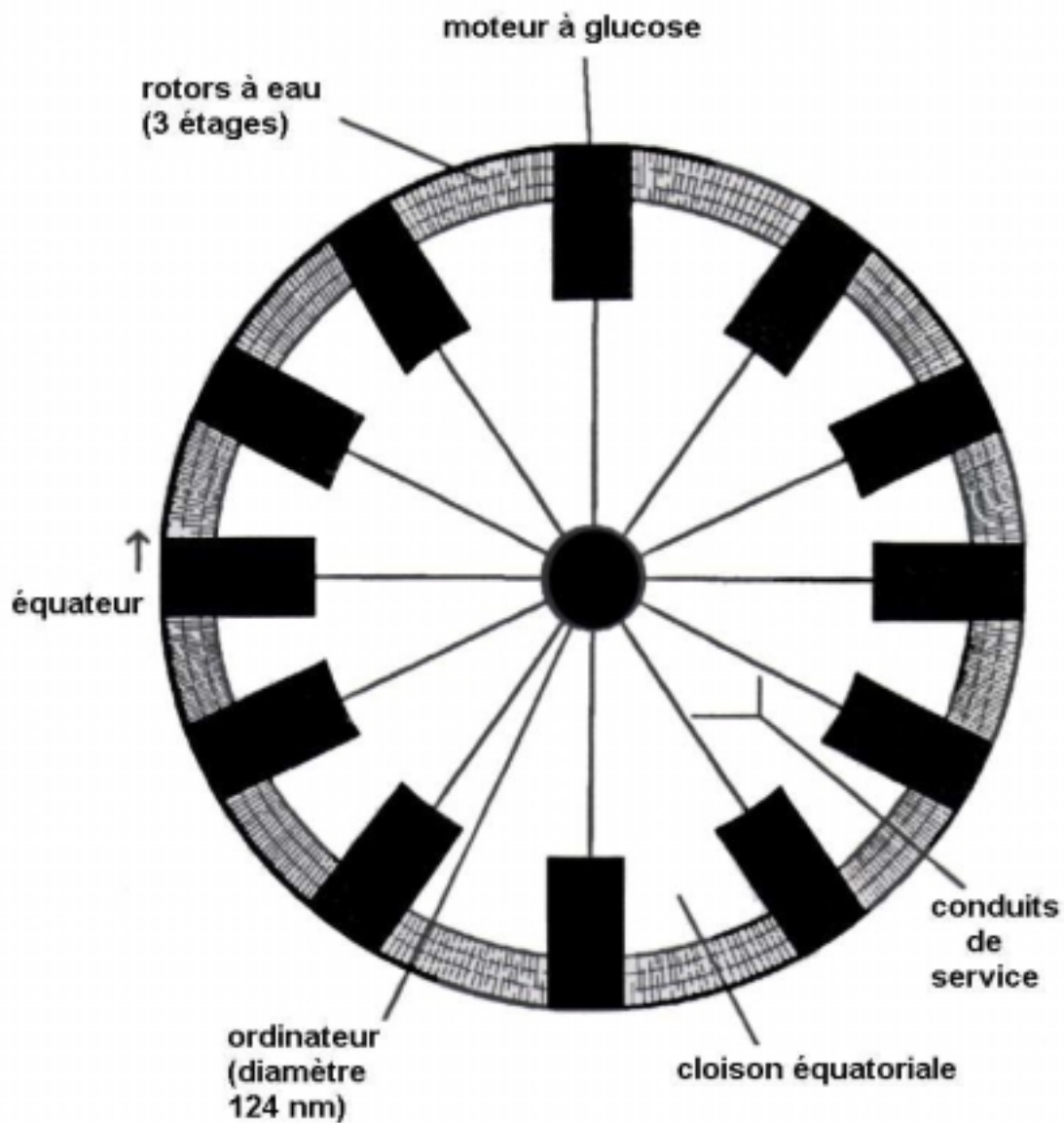
Le réseau équatorial des stations de pompage occupe 50% de la surface du respirocyte. Le reste est occupé par un code-barres universel fait de sillons peu profonds aux bords adoucis,

cercles centrés sur les pôles. Ce codage permet une identification simple du produit par le médecin traitant à partir d'un petit échantillon sanguin s'il a accès à un microscope électronique. Il pourrait aussi être lu rapidement par d'autres nanorobots médicaux développés dans l'avenir.

Figure 5 B : coupe polaire du respirocyte



**Figure 5 C : coupe équatoriale du respirocyte**



### 3.6 Conception du réservoir

Chaque réservoir de stockage est construit en diamant ; formant un nid d'abeille ou constituant une charpente géodésique. L'ensemble de la structure est équivalent à une feuille de diamant de  $2,2 \times 2,2$  microns, épaisse de  $10 \text{ nm}$  ( $\cong 60$  atomes), suffisante pour réaliser les  $1000$  compartiments ( $\cong 40 \text{ nm}^3$ ) de tous les réservoirs. Les parois des compartiments sont percées d'assez de trous de tailles variées pour laisser passer facilement les gaz de l'un à l'autre. Leur taille diminue quand on s'éloigne des rotors pour favoriser une répartition isobare.

La présente conception inclut des chambres séparées pour l' $\text{O}_2$  et le  $\text{CO}_2$ . En théorie, ces gaz pourraient être mélangés dans une chambre unique. La chambre unique permettrait de doubler la capacité de transport d'oxygène de chaque respirocyte dont le volume total pourrait être rempli initialement d'oxygène sous  $1000 \text{ atm}$ . Cette approche a quatre inconvénients mineurs :

- c'est la concentration du gaz carbonique qui contrôle la respiration, pas celle de l'oxygène : il faut donc disposer à tout moment d'échantillons mesurables de CO<sub>2</sub>, ce qui réduit le surplus de volume disponible pour le stockage de l'oxygène ;
- les respirocytes peuvent être employés pour réduire une surcharge des tissus en CO<sub>2</sub>, ce qui implique un volume de stockage de ce gaz important ;
- le taux de fixation des molécules pour le rejet des gaz par les rotors trieurs pourrait être plus faible en présence d'un mélange gazeux, ce qui réduirait la vitesse maximum de dégazage des respirocytes ;
- la ventilation avec du gaz pur en cas d'urgence serait impraticable.

## 4. Possibilités thérapeutiques et performances

Les globules rouges artificiels donnent au médecin un contrôle précis et indépendant des profils de courbes de saturation pour l'oxygène et le gaz carbonique, soit pour augmenter l'efficacité du transport gazeux, soit pour satisfaire certaines fonctions spécialisées imposées par des situations d'urgence, des activités inhabituelles ou des traitements médicaux spécifiques.

### 4.1 Dose thérapeutique minimum

Le corps humain a en moyenne  $3 \times 10^{13}$  globules rouges, contenant chacun  $2,7 \times 10^8$  molécules d'hémoglobine fixant quatre molécules d'O<sub>2</sub>, ce qui donne une capacité totale de stockage du sang de  $3,24 \times 10^{22}$  molécules d'O<sub>2</sub>. Comme l'hémoglobine passe normalement de 95% à 70% de saturation entre les artères et les veines, (tableau 1), seuls 25% de l'oxygène stocké sont accessibles aux tissus : la vraie capacité du sang est donc de  $8,1 \times 10^{21}$  molécules d'O<sub>2</sub>.

En revanche, chaque respirocyte stocke  $1,51 \times 10^9$  molécules d'oxygène, toutes disponibles pour les tissus. Ainsi,  $5,36 \times 10^{12}$  respirocytes doublent la capacité vraie du sang.

S'ils sont administrés par injection hypodermique ou transfusion sous forme de suspension colloïdale aqueuse à 50% (neutralité hématocrite), il faut une dose de  $5,61 \text{ cm}^3$  de suspension active, injectable en quelques secondes sur le lieu d'un accident. La dose thérapeutique peut doubler la capacité naturelle des hématies sans limite de temps si le patient respire ; dans le cas contraire, l'oxygène stocké assure tous les besoins en gaz pendant presque deux minutes.

La membrane alvéolaire des poumons humains permet le passage de  $3,2 \times 10^{21}$  molécules/s d'O<sub>2</sub> au maximum à travers sa surface [92], assez pour charger complètement 42% des respirocytes thérapeutiques pendant un transit dans les capillaires pulmonaires (5 à 10 secondes [92]). Au repos, le circuit sanguin s'effectue en 60 secondes [16]. 17% seulement des respirocytes injectés sont présents à un moment donné dans les poumons. Et comme les respirocytes peuvent établir des gradients osmotiques plus élevés que les globules rouges, la vitesse de diffusion de l'oxygène alvéolaire ne devrait pas limiter la réoxygénation d'une dose thérapeutique épuisée.

L'absorption humaine journalière d'oxygène oscille [92] entre 0,48 kg au repos (production de chaleur de tout le corps  $\cong$  100 W ou 2 000 kcal) et 9,6 kg pour un effort physique maximum ( $\cong$  1600 W ou 33 000 kcal). Chaque tranche de 300 watts de chaleur exogène ajoutée à la charge thermique du corps (par le fonctionnement des respirocytes) augmente la température centrale de 0,5°C. Une dose thérapeutique de respirocytes produit de 17 (au repos) à 340 W (travail maximum) en transportant les gaz respiratoires et élève au plus la température centrale de 0,5°C [93]. La ponction de glucose endogène nécessaire au fonctionnement continu des respirocytes varie de 350 à 7 000 kcal/jour, 20% de la consommation calorique normale qui pourraient probablement être ramenés à 1% ou moins avec une conception plus économique.

Si les globules rouges fonctionnent normalement, les respirocyles restent inactifs et leur besoin énergétique est nul.

#### **4.2 Dose maximale**

Un des bénéfices potentiels des dispositifs nanomédicaux est leur aptitude à étendre les capacités naturelles de l'homme. Si un médecin souhaite porter au plus haut en permanence la capacité de transport d'oxygène de son patient en lui infusant le plus grand nombre possible de respirocyles, il sera limité par l'équilibre total d'hématocrite après infusion. Il oscille chez le sujet masculin entre 40 et 52% (46% en moyenne) [94].

Les indigènes des Andes vivant dans les hautes régions du Pérou et de Bolivie se sont adaptés à l'air raréfié avec 60% d'hématocrite [95]. Les malades de polycythémie ont un taux de 75 à 85% [96], entraînant des troubles de la circulation, la viscosité du sang augmentant avec ce taux.

L'infusion d'un litre d'une suspension de respirocyles à 50% (un litre est à la fois la limite de perte de sang asymptomatique [97], l'augmentation du volume de plasma chez les gens adaptés à la haute altitude [95], la limite d'hémodilution pour l'ingestion d'eau douce dans les poumons [98] et la capacité de la rate) élève à 55% du volume sanguin le volume des transporteurs d'oxygène (46% d'hématocrite, 9% de "respirocrite"), après ponction d'une quantité d'eau égale à celle de l'infusion. C'est probablement la limite de sécurité pour des patients intacts au plan hématologique, le taux normal d'hématocrite dépassant rarement 52%.

En l'absence de respiration ou d'oxygène atmosphérique, une dose additive de  $9,54 \times 10^{14}$  respirocyles à pleine charge d'oxygène assurerait aux tissus la fourniture d'oxygène et l'enlèvement du gaz carbonique pendant 12 minutes pour un effort maximum et 3, 8 heures au repos, même en cas d'arrêt cardiaque. (La durée pourrait être allongée jusqu'à 1-20 heures en s'affranchissant de plusieurs contraintes de précaution : pression de stockage montée de 1 000 à 10 000 atm, respirocyles sans ballast et à une seule chambre). Le rechargement complet de tous les réservoirs d'oxygène et de glucose nécessite 28 kcal ( $\cong$  un morceau de sucre). En laissant six minutes au système pour se recharger, la puissance calorifique reste en dessous de 300W (1°F d'élévation de la température centrale, § 4.1). La capacité alvéolaire maximum d'échange pour l'oxygène pourrait allonger à 8 minutes le temps de remplissage. Celui-ci nécessite l'absorption de  $1,44 \times 10^{24}$  molécules d'O<sub>2</sub> (53,7 litres dans les conditions normales de température et de pression). L'air inspiré les fournit en 6 minutes si le patient s'hyperventile (62 cycles/min de 3290 cm<sup>3</sup>) à 3 heures si la respiration est normale (18 cycles/min de 350 cm<sup>3</sup>).

Le protocole d'infusion suivant paraît plausible : après leur fabrication [2,99], les respirocyles sont stockés en doses additives uniques sous forme de poudre sèche, réservoirs vides, dans des poches à perfusion plastiques scellées comprenant deux raccords de tuyaux. En l'absence de batteries qui se déchargent, de consommables qui se périment, de vapeurs qui s'échappent, de matières organiques qui se décomposent, le produit devrait avoir une longue durée de conservation. Pour son utilisation, la poche est remplie de solution glucosée à température de fusion dosée à 0,13 M (23 mg/l), plus quelques sels, minéraux, vitamines, protéines ou autres substances que le médecin juge appropriées. La poudre flotte à la surface du liquide. Le second orifice est relié à une source d'oxygène (et de gaz carbonique si besoin). Les capteurs du respirocyle détectent la présence de glucose et commencent à pomper le carburant dans ses réservoirs. Pendant que ces réservoirs se remplissent, chaque dispositif charge son réservoir à oxygène à la quantité fixée. La poudre flotte toujours à la surface. Enfin, le respirocyle remplit son ballast et coule au fond de la poche. (La poudre restant en surface trahit son

mauvais fonctionnement.). Durant les 30 secondes de ce chargement, les respirocytes absorbent 53,7 litres d'O<sub>2</sub> (conditions normales), stockent les 0,78 litres de CO<sub>2</sub> produits par la combustion du glucose, dégagent assez d'énergie pour élever à 42°C la solution de glucose ramenée à 0,005 M, proche en température et concentration du sang. Un ordre d'activation est envoyé par transmission acoustique (transmetteur ultrasonique appliqué à la poche) aux respirocytes qui déballastent suffisamment pour neutraliser leur flottabilité. On obtient une suspension parfaite, prête après agitation à être injectée par goutte à goutte intraveineux. La suspension a 300 fois la viscosité du plasma ( $\cong$  celle de l'huile de ricin ou de colza à 37°C), ce qui permet encore l'écoulement directement par sonde [100]. Des procédures similaires d'activation peuvent être employées pour administrer des doses thérapeutiques moindres. De petits lots de produit préchargé stérilisé pourraient être conservés au bureau, dans l'ambulance ou la salle d'urgence de l'hôpital.

Des doses plus fortes sont possibles. Les patients qui ont perdu  $\cong$  2 litres de sang peuvent se rétablir si le volume sanguin est rétabli par une transfusion de sang ou de plasma [97] ; le rétablissement est également possible après une perte graduelle de  $\cong$  3 litres de sang en 24 heures [97,101]. En cas d'urgence, de choc, au combat, plusieurs litres de suspension pourraient être rapidement transfusés, assurant temporairement jusqu'à 12 heures le transport des gaz respiratoires chez des patients qui ne respirent pas. En théorie, on pourrait retirer tous les globules rouges de la circulation et remplacer durablement les 5,39 litres de sang d'un homme par une suspension de respirocytes. Cependant, cette procédure serait inopportune pour plusieurs raisons :

- une dose maximum d'un litre augmente la capacité de stockage du sang de 18 000 % mais aller jusqu'au remplacement complet n'augmente à nouveau que de 400% la capacité tout en supprimant le système de régénération naturelle des hématies, en accroissant beaucoup les risques et en violant les principes de conception sécurisée et d'intervention minimale ;
- l'élimination des globules rouges, qui occupent surtout le centre des vaisseaux, peut empêcher le refoulement périphérique des plaquettes et des leucocytes, interférant avec l'hémostase naturelle et les fonctions immunitaires (§ 5.6) ;
- de grands systèmes de nanomachines peuvent présenter des dysfonctionnements inattendus, augmentant la vulnérabilité aux défauts systématiques de conception ;
- l'absence d'érythropoïèse peut déclencher des troubles organiques et des déséquilibres biochimiques tels que :
  - l'hémochromatose et la toxicité cumulative du fer, favorisant les dommages causés par les radicaux libres, conduisant à des dysfonctionnements du cœur, du foie, des reins, au diabète et aux hépatites ;
  - des réponses homéostatiques à l'anémie comprenant un forçement du cœur, la vasodilatation, des changements de volume, etc ;
  - des maladies de la rate.

#### **4.3 Protocoles de contrôle des respirocytes**

Le comportement des respirocytes est initialement contrôlé par un ensemble de protocoles par défaut, qui peuvent être modifiés à tout moment par le médecin traitant. A côté de la simple procédure de mise en route évoquée au paragraphe 4.2 et du protocole de filtration décrit au paragraphe 2.2.5, des protocoles de base fixeront la vitesse et le sens de rotation des rotors trieurs en réponse aux données des senseurs. Par exemple, le pompage de l'eau des ballasts sera normalement commandé par les capteurs internes de remplissage et de température. Les rotors à O<sub>2</sub> peuvent remplir les réservoirs pour une pression partielle (alvéolaire) d'oxygène  $P_{O_2} > 95$  mm Hg et se décharger à  $P_{O_2} < 40$  mm Hg (pression tissulaire). Les rotors à CO<sub>2</sub> peuvent remplir à  $P_{CO_2} > 46$  mm Hg, vider à  $P_{CO_2} < 40$  mm Hg et intégrer d'autres données

dont  $P_{O_2}$ , la température, etc... pour affiner les seuils de température et augmenter la fiabilité. Les pressions de chargement des gaz peuvent être spécifiées précisément dans une table de valeurs individualisée chargée dans les respirocytes, adaptée par le médecin à son patient. Ce peut être par exemple un ajustement à la diminution du gradient de pression d' $O_2$  à haute altitude [95]. Les respirocytes, comme l'hémoglobine naturelle, peuvent aussi participer à l'élimination de l'oxyde de carbone et au contrôle vasculaire [102] lié à l'oxyde d'azote si les rotors trieurs appropriés et les réservoirs sont fournis.

Les respirocytes peuvent être programmés pour des comportements plus sophistiqués. La détection de  $P_{CO_2} < 0,5$  mm Hg et  $P_{O_2} > 150$  mm Hg, qui indique une exposition à l'air libre et une forte probabilité de sortie de l'organismes à l'occasion d'un saignement, devrait déclencher une procédure de vidange des gaz et d'arrêt d'urgence du dispositif. Des algorithmes d'auto-test contrôlant les vitesses de remplissage des réservoirs, des chutes inattendues de pression (indiquant une fuite), des réactions de crise, etc... pourraient détecter un défaut important de fonctionnement du respirocyte et le mettre en mode d'attente, prêt à recevoir l'ordre d'exécuter la procédure de filtration pour son extraction. Avec des capteurs de pression intérieurs ( $21 \text{ nm}^3$ ), les respirocytes peuvent détecter, enregistrer ou réagir à des variations du rythme cardiaque ou de la pression sanguine, puisque la pression artérielle est normalement de 0,1 à 0,2 atm ( $\cong 10^{-19}$  J/par capteur de  $21 \text{ nm}^3$ ) et le différentiel des pressions systolique/diastolique de 0,05 à 0,07 atm ( $4-6 \times 10^{-19}$  J/par capteur de  $21 \text{ nm}^3$ ), tous deux bien au dessus de la limite de l'agitation thermique moyenne de  $kT \cong 4 \times 10^{-21}$  J à la température du corps. Des protocoles d'émission de messages permettraient à la population de respirocytes de signaler un état généralisé (par ex. "oxygène bas", "glucose bas", "attaque immunitaire", "cyanure détecté" [103]) directement au patient en provoquant des signes physiologiques reconnaissables (fièvre, frissons, suffocation) ou au médecin par des symptômes respiratoires subtils à détecter à l'aide d'appareils de diagnostic, soit automatiquement soit en réponse à une interrogation globale transmise par acoustique à l'initiative du patient ou du médecin.

D'autres protocoles utiles permettraient de commander aux respirocytes in vivo de cesser ou reprendre leur activité, localement ou globalement, de lancer ou d'arrêter tel ou tel type de rotors trieurs, de changer la sensibilité des capteurs ou les seuils de pression d'activation pour contrôler l'érythropoïèse, (§ 5.2), vider les réservoirs ou faire tourner tous les moteurs continûment, etc. Des messages de commande de ce genre exigent des codes d'autorisation sécurisés pour éviter le déclenchement accidentel ou malveillant d'actions des respirocytes aux conséquences potentiellement nocives.

## **5 Sûreté et biocompatibilité**

La sûreté et l'efficacité des respirocytes dépendront fortement de leur fiabilité mécanique face aux défis d'un environnement inhabituel et sur leur compatibilité avec les organes, tissus et systèmes biochimiques de l'homme.

### **5.1 Pannes mécaniques**

Les routines d'auto-test de base devraient pouvoir détecter les types simples de pannes tel que rangées de rotors bloqués, conduits bouchés, fuites de gaz etc... et, grâce au système de sauvegarde, mettre le dispositif en sommeil en attendant son retrait par filtration. Cependant plusieurs sortes de pannes physiques catastrophiques doivent être discutées.

#### **5.1.1 Surchauffe**

Quatre scénarios sont fondés sur la surchauffe du respirocyte :



- en fonctionnement normal, il est déposé dans un endroit relativement sec (os ou cartilage par exemple), perdant le contact avec le milieu aqueux dissipateur de chaleur;
- un ou plusieurs moteurs à glucose se bloquent à plein régime ;
- des rotors de chargement dépassent la pression fixée ;
- le dispositif brûle.

Dans le premier scénario, l'échec du protocole de coupure en cas de surchauffe admis, un moteur à glucose peut continuer à fonctionner à plein régime pendant 10 secondes, vidant son réservoir. 6,1 picojoules sont dégagés. L'augmentation de température du respirocyte isolé va de 5,5° (réservoirs pleins) à 32,9° centigrades (réservoirs vides) : elle est insuffisante pour causer des dommages biologiques.

Dans le second scénario, l'échec du protocole chargé de détecter et d'empêcher l'emballlement de plusieurs moteurs admis, le pire est atteint quand les 12 moteurs se bloquent à pleine puissance, créant une énergie thermique continue de 7,3 picojoules. Si ce mauvais fonctionnement se produit en milieu aqueux dissipateur de chaleur, le dispositif reste en équilibre thermique à peu près à la température ambiante. Le processus est autolimitatif dans les capillaires sanguins par l'épuisement du stock local de glucose libre dans le sérum sanguin). Si l'incident se produit en un lieu isolé thermiquement, la température augmente jusqu'à atteindre le maximum de fonctionnement (peut-être 400° à 500°K [99]), les parties mobiles tombent en panne et le dispositif devient inerte. Il y a peu de risque de rupture de réservoir car la conception prudente de la capsule garantit une marge de sécurité de 10 000% (§ 2.2.1), même à une température aussi élevée que 1 300 °K [2].

Dans le troisième scénario, l'échec du protocole de diagnostic une fois encore admis, les rotors remplisseurs pompent le gaz bien au-dessus de la pression prévue de 1 000 atm. Cela ne devrait pas provoquer la rupture des réservoirs car les rotors trieurs ne peuvent pomper au delà de 30 000 atm [2] et le récipient sous pression peut résister à 100 000 atm avant d'exploser.

Finalement, la combustion complète d'un respirocyte dans l'air (un réservoir d'O<sub>2</sub> plein ne contient que 10% du gaz nécessaire) dégage au moins 12 000 picojoules, à peine de quoi élever de 1°C la température d'une cellule. La faible tension d'éclatement d'une étincelle à l'écartement maximum que permet la plus petite chambre à oxygène exclut l'inflammation spontanée. L'ébouillantage, l'électrocution ou l'irradiation électromagnétique accidentelle de tissus contenant des respirocytes ne devrait pas déclencher la combustion des dispositifs. Et on peut rendre les respirocytes complètement ininflammables en construisant leurs parties intérieures en saphir, un matériau aux propriétés chimiques et mécaniques similaires à celles du diamant.

### 5.1.2 Explosion sans combustion,

Chaque respirocyte peut contenir jusqu'à 0,24 microns<sup>3</sup> d'oxygène et de gaz carbonique à 1 000 atm, ce qui représente 24 picojoules d'énergie mécanique stockée. Si le dispositif explose dans l'air, les projections s'éloigneront à une vitesse moyenne de 257 m/s, ce qui est plus que celle de l'agitation thermique à 310°K de particules de 1nm (56 m/s) mais moins que la vitesse du son dans l'air (331 m/s), aussi ne devrait-il pas y avoir d'onde de choc acoustique. Si le dispositif explose dans un tissu, les gaz travaillent contre le fluide environnant, déplaçant 10<sup>-16</sup> m<sup>3</sup> d'eau en élevant sa température de 0,04°K et créant une bulle de 6 microns de diamètre, soit 2% du volume d'une cellule humaine. Comme la distance entre respirocytes dans le sang est de 2 à 10 microns (selon le dosage), de telles bulles de gaz devraient être

réabsorbées presque immédiatement ; des explosions isolées ne peuvent causer une embolie ou d'autres dommages sensibles.

A moins d'un défaut de fabrication, il est difficile d'imaginer un scénario qui amènerait à une défaillance de toute la structure in vivo. Lors d'une chute de plusieurs étages ou d'une collision frontale d'automobiles, l'accélération instantanée varie entre  $10^2$  et  $10^4$  g [104-105]. Mais une coque sphérique en diamant devrait résister à des accélérations jusqu'à  $10^8 - 10^{10}$  g. Ecraser un tissu humain imprégné de respirocytes dans une presse hydraulique ne devrait pas détruire ceux-ci, qui s'échapperaient sur les côtés. La même logique s'applique aux blessures par balle, aux coups de couteaux qui atteignent l'os et aux coups d'objets contondants sur le crâne [104].

Les respirocytes n'exploseront que s'ils sont écrasés entre deux surfaces dures et planes sans échappatoire. Les articulations osseuses pivotent dans la synovie, isolée du flux sanguin. Aussi le seul scénario est le grincement de dents –l'émail dentaire est la substance naturelle la plus dure du corps– et un patient souffrant d'une lésion buccale pourrait s'épandre sur les dents du sang chargé en respirocytes. Des explosions isolées pourraient être indétectables : plusieurs milliers d'explosions pourraient produire un pétilllement dans la bouche. L'écrasement de 20 millions de respirocytes (contenus dans une goutte de  $0,5 \text{ mm}^3$  d'une dose maximale) produisant au plus une impulsion explosive de 0,1 m/s appliquée aux mâchoires mais ceci suppose l'échec simultané dans tous les dispositifs du protocole de sortie du flux sanguin, événement hautement improbable.

### 5.1.3 Effet des radiations

Une simple analyse du dommage causé aux nanomachines et de la fiabilité des composants (pour  $\approx 0,5$  rad/an) [2] suggère qu'un respirocyte de  $10^{-16}$  kg reçoit 0,05 radiation fatale par an, ce qui lui laisse une espérance de vie opérationnelle de vingt ans.

## 5.2 Interférence avec l'érythropoïèse

La masse des globules rouges en circulation est régulée par l'ajustement de leur production par la rate (1% des hématies sont détruites naturellement chaque jour) en fonction de l'oxygénation du sérum. Des conditions hypoxiques dans les cellules péri-tubulaires rénales [106] provoquent la sécrétion d'érythropoïétine (EPO) qui induit la différenciation des cellules progénitrices en pronormoblastes, dilatant la moelle hématopoïétique, augmentant la production de globules rouges et le niveau d'oxygène des tissus [94, 107].

L'action d'une dose thérapeutique de respirocytes empêche l'hypoxie des tissus, et pourrait réduire la sécrétion d'EPO à 1% de son niveau normal [106], supprimant l'érythropoïèse. Une situation antihypoxique continue pourrait faire tomber le taux d'hématocrite à 14% [108], voire à 0%. Un phénomène similaire, dans lequel un déplacement vers la droite de la courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine conduit à l'augmentation de la délivrance d' $\text{O}_2$  aux tissus, à la diminution de la production d'érythropoïétine et à la baisse de l'hématocrite a été proposé pour expliquer des anémies du sport [109].

Il est possible d'éviter la décimation de la population naturelle d'érythrocytes en ajustant les seuils de réponse des respirocytes pour les pressions partielles d'oxygène et de gaz carbonique pour ne les activer que quand les hématies sont surchargées. (Il y a un risque supplémentaire d'hémolyse hyperoxygène [110-111] si les seuils permettent une livraison excessive d' $\text{O}_2$ ). Les patients qui ont reçu de forts volumes de transfusions de respirocytes en urgence ou sur le champ de bataille pourraient avoir besoin d'injections post-traumatiques d'EPO recombinante [112-113] pour stimuler l'érythropoïèse, suivies de l'extraction des respirocytes en excès à mesure que les hématies reviennent à un taux normal.

### 5.3 Thrombogénèse électrique de surface

Une hypothèse ancienne voulait que la charge de surface soit la caractéristique physicochimique première, dans le contact entre le sang et les surfaces matérielles, du déclenchement de la thrombogénèse. Les cellules se couvrent d'acides sialiques chargés négativement, à la fois sur les protéines et les gangliosides et sur les macromolécules dans tous les fluides biologiques connus. Elles devraient donc être repoussées par les surfaces du dispositif si celui-ci est chargé négativement ou s'il a un potentiel électrochimique négatif, ce qui réduit le risque de thrombose.

Cependant, on sait maintenant que l'immersion dans un liquide de particules adhérentes élimine virtuellement les forces électrostatiques d'image<sup>2</sup>, réduit beaucoup les forces électrostatiques potentielles de contact et peut réduire les forces de Van der Waals d'un facteur 6 à l'interface matière organique-eau [114]. L'hypothèse est encore affaiblie quand le liquide d'immersion n'est pas neutre ou isolant mais plutôt l'un de ces fluides organiques fortement ionisés, salés, très conducteurs ("le court-circuit mortel") que l'on trouve in vivo. Des expériences soignées de mesure du potentiel et de la charge de surface ont montré que le choix des propriétés électriques de surface des matériaux destinés à entrer en contact avec le sang ou d'autres fluides aqueux et salés a peu d'influence sur l'adhérence biologique [115]. On se rend de plus en plus compte en fait que tous les états électriques de surface s'accompagnent d'une accumulation de débris plutôt élevée sur cette surface, encore que l'accentuation soit évidente avec des surfaces chargées positivement [115]. D'où il ressort que la neutralité de surface du respirocyte est préférable pour réduire la thrombogénèse électrique de surface.

### 5.4 Thrombogénèse mécanique

Les rotors trieurs en rotation sont peu susceptibles de causer des dégâts aux éléments solides du sang pour plusieurs raisons. Les rotors sont lisses à l'échelle atomiques et enfoncés dans leur logement, réduisant le contact physique avec les surfaces heurtées et éliminant des sites d'adhésion potentielle où pourraient se former des caillots, des embolies gazeuses ou des spumosités. On peut n'avoir qu'une seule station de pompage en action (0,5% de la surface du respirocyte), ce qui réduit la possibilité d'impact physique. Le contact, quand il se produit, devrait être relativement bénin : la vitesse tangentielle maximum du bord du rotor vaut 1% de celle du flux aortique et la vitesse moyenne (en considérant le dosage, le chargement et le cycle de travail) est au plus celle du sang dans les capillaires (tableau 6).

**Tableau 6 : vitesses du flux sanguin**

Vaisseau sanguin ou élément	Vitesse en mm/sec
Artère fémorale	350 à 1175
Aorte ascendante	245 à 876
Carotide commune	99 à 388
Carotide sinusale	85 à 325
Veine cave	107 à 160
Artérioles	5 à 50
Rotors, vitesse maximum	2,70
Capillaires	0,20 à 1,50
Rotors, vitesse moyenne	0,02 à 0,90

Les chocs entre les plaquettes et les respirocytes ont les mêmes vitesses et fréquences ; mais ils provoquent moins de cisaillement que les collisions auxquelles les plaquettes sont

<sup>2</sup> electrostatic image forces

exposées avec les autres éléments du sang ; les respirocytes ne devraient pas augmenter sensiblement le risque de thrombose mécanique. Considérant la section transversale et l'agitation thermique, les plaquettes, qui sont les éléments les plus fragiles ( $\cong 2$  microns de diamètre [116]), devraient subir 7 chocs par seconde à une vitesse relative de 5 mm/seconde contre des respirocytes thérapeutiques, une faible augmentation du nombre total de chocs : 2/s à 1 mm/s contre les autres plaquettes, 40/s à 0,4 mm/s contre les hématies et une centaine contre les parois des capillaires à 0,5 – 5 mm/s. Les doses maximales augmentent le taux de collisions jusqu'à  $10^3/s$  à 5 mm/s, encore augmenté parce que les globules rouges occupent surtout la région centrale des vaisseaux [116], repoussant les respirocytes et les plaquettes ensemble vers la périphérie et parce que les retournements des hématies [100] communiquent une énergie radiale additionnelle aux plaquettes et aux respirocytes. Cependant, le cisaillement maximum par collision est inférieur à  $1 \text{ dyne/cm}^2$ . Le seuil d'agrégation des plaquettes par contrainte de cisaillement est de 60-90  $\text{dyne/cm}^2$  [117-120], à comparer avec la moyenne de 15 à 20  $\text{dynes/cm}^2$  [117-121] (allant de 5 à 56  $\text{dynes/cm}^2$  pour la circulation dans les vaisseaux normaux et jusqu'à 100-400  $\text{dynes/cm}^2$  quand les artères et artérioles sont partiellement obstruées par l'artériosclérose ou des spasmes vasculaires [120,122]).

Ainsi, l'agrégation plaquettaire, les dommages aux globules rouges et leucocytes en circulation ou aux vaisseaux sont improbables. Les résultats obtenus en testant dans la veine cave, l'embolus rénal<sup>3</sup> et ex vivo des revêtements de diamant déposé par ionisation indiquent un haut degré de thromborésistance [123].

### **5.5 Abrasion du glycocalyx cellulaire**

Le glycocalyx cellulaire (qui n'est pas repoussé par la surface neutre des respirocytes) pourrait-il en s'étalant être abrasé, même par un rotor en retrait ? Les sites de fixation des rotors pour le glucose et les petites molécules de gaz respiratoires de moins de vingt atomes nécessitent des poches mesurant moins de 2,7 nm de diamètre [2], physiquement trop petites pour s'ajuster aux 10 à 20 nm d'épaisseur de la couche de protection des cellules ou aux projections de glycocalyx mesurant habituellement 5 à 8 nm d'épaisseur et 100 à 200 nm de long [124], constituées de protéines ayant 10 000 atomes ou plus. Alors qu'un résidu de sucre peut occasionnellement rester attaché, les sites de fixation peuvent être conçus avec une incompatibilité stérique maximale pour les glycoprotéines du glycocalyx et les protéoglycanes, ce qui réduirait encore les risques d'abrasion. En admettant 0,5% des rotors actifs et une durée de collision de 0,1 ms, chaque projection de glycocalyx rencontre une poche de rotor actif toutes les une à cent secondes (habituellement sans effet), selon le dosage. Comme le manteau de la cellule est le produit d'une sécrétion incorporée à sa surface et qui est renouvelée constamment, toute glycoprotéine de glycocalyx abrasée serait rapidement remplacée par une biosynthèse dans les ribosomes du reticulum endoplasmique suivie d'un assemblage final avec la fraction oligosaccharidique dans l'appareil de Golgi.

### **5.6 Agrégation des globules rouges et refoulement périphérique des autres cellules**

Quand elles s'agrègent, les hématies occupent de préférence la partie axiale du flux et repoussent aux contours les plaquettes et leucocytes, augmentant l'adhésion endothéliale et d'autres interactions cellules-parois. Les respirocytes pourraient-ils prévenir l'agrégation ou réduire le refoulement périphérique, affectant défavorablement les mécanismes de thrombose et autres défenses naturelles ?

---

<sup>3</sup> renal embolus

Les taux normaux de chocs contre les parois dans le flux sanguin vont de 50-700/s dans les artères les plus grosses à 250-2000/s dans les plus petites et les capillaires [100]. A des taux de collision inférieurs à 50/s [125], les globules rouges forment des agrégats (rouleaux) en chaînes linéaires et ramifiées dans lesquelles les surfaces des cellules sont liées ensemble par du fibrinogène.

Comme les respirocytes n'auront pas de tropisme axial [100] et comme leur surface adamantine ne sont pas chimiquement active et peuvent être rendus presque invisibles au fibrinogène (§5.7), leur présence ne devrait pas interférer avec les processus d'adhésion de la formation des rouleaux loin des parois des vaisseaux, où les taux de cisaillement sont faibles.

Comme les globules rouges s'agrègent dans le flot tubulaire, les rouleaux migrent vers le centre en y formant un réseau d'agrégats entouré par une couche pauvre en cellules où ne se trouvent que des cellules isolées, de petits rouleaux, des globules blancs, des plaquettes et des respirocytes. Il en résulte un flux à deux phases : une zone périphérique à fort taux de cisaillement entourant une zone centrale à faible cisaillement et forte concentration de cellules [100]. Une dose thérapeutique de respirocytes représente 0,1% du total de la masse de globules rouges et jusqu'à 22% seulement pour un litre de dose additive ; aussi la dispersion par choc de la zone périphérique à fort cisaillement devrait être minimale et le taux effectif de diffusion devrait rester élevé. Comme une suspension plasmatique de microsphères à 9% de particules ( $\cong$  respirocrite finale d'une dose additive maximale) est d'une viscosité indistincte de celle du sang à 9% d'hématocrite [100] et comme le sang à 55% d'hématocrite n'empêche pas le refoulement périphérique, les respirocytes ne devraient pas constituer un danger de ce point de vue.

### **5.7 Coagulation, inflammation et phagocytose**

Lors de l'implantation d'un matériau étranger, le premier phénomène qui commande la biocompatibilité est l'adsorption de protéines du sang par sa surface [126-128]. Cette adsorption étant beaucoup plus rapide que le déplacement des cellules vers la surface étrangère, les cellules hôtes interagissent avec les protéines hôtes adsorbées par la surface du matériau plutôt qu'avec le matériau lui-même. L'état d'adsorption et la conformation du fibrinogène, principale protéine de surface à initier la coagulation [126,129-131] et l'inflammation [132-133], est communément utilisée comme indicateur de biocompatibilité [134].

La biocompatibilité de la surface du diamant n'a pas fait l'objet d'investigations étendues. Une étude récente [135] de l'adsorption du fibrinogène elutable<sup>4</sup> par une surface de diamant déposé par évaporation chimique (DEC) a donné des taux d'adsorption de  $\cong 200 \text{ ng/cm}^2$ , équivalents à  $\cong 10^4$  molécules couvrant une sphère d'un micron de diamètre, ce qui augmenterait la masse du respirocyte de 1% et couvrirait 10% de sa surface. L'énergie de surface du diamant le rend extrêmement hydrophobe, aussi le fibrinogène (et les éléments formés du sang) ne devraient pas adhérer facilement à la surface ajustée à l'atome de diamant près [123,136] (par exemple, les berniques ne se fixent pas sur le diamant [137]). Si l'adsorption des protéines du plasma reste un problème, chaque respirocyte peut être doté d'une surface entièrement active capable de désadsorber mécaniquement le fibrinogène (une molécule couvre environ la surface d'un rotor trieur à son point de fixation) ; ou bien la surface peut être héparinisée [138-139], recouverte de glycolipides synthétiques comme le polyéthylène-glycol [140] ou encore liée par covalence à des groupes masquants (comme les composants de couverture des jeunes érythrocytes qui sont invisibles pour le système réticulo-endothélial (SRE) [141] ou les

---

<sup>4</sup> elutable

molécules macrophagobiques. Des actions complémentaires d'activation et de simulation de réactions fébriles ou allergiques par le diamant doivent cependant être testées.

Le taux de fixation des leucocytes polynucléés humains (les globules blancs les plus fréquents dans le sang) à la surface du diamant DEC est d'environ 400 000 cellules /cm<sup>2</sup>, ou une par respirocyte, même après recouvrement par du plasma pendant quatre heures [135]. Des photographies par balayage électronique de surfaces de diamant DEC implantées dans un péritoine de souris pendant une semaine ne montraient pas de réponse inflammatoire ; une surface polie (trame  $\cong$  1 000 nm) portait des macrophages étalés et fusionnés mais les surfaces brutes (trame  $\cong$  250 nm) montraient des macrophages arrondis, sans étalement (inactifs), sans pseudopodes ni ponts intercellulaires [135]. Il est possible que les surfaces adamantines parfaites à l'atome près (trame  $\cong$  1 nm) soient presque invisibles pour les macrophages. Une autre étude utilisant des plaques de cultures tissulaires recouvertes de 400 nm de carbone diamanté<sup>5</sup> n'ont provoqué aucune réponse toxique ou inflammatoire des macrophages péritonéaux et des fibroblastes de souris développés à leur surface [142]. L'implantation chez le mouton d'épingles orthopédiques recouvertes de DLC a également montré une faible bioactivité [143]. Des recherches plus avancées sont nécessaires pour confirmer si les surfaces parfaites de diamant pourraient être entièrement bio-inactives.

Des expériences ont déjà montré que les globules rouges artificiels sont retirés de la circulation pulmonaire pour ceux qui mesurent plus d'un micron et par le SRE [144], particulièrement les cellules de Kupffer du foie pour les plus petites. Si les cellules de Kupffer pouvaient identifier les respirocytes et tenter de les phagocyter, il suffirait d'environ 0,4 gramme (14% d'une dose thérapeutique) de ces particules non métabolisables pour bloquer le système phagocytaire mononucléique et arrêter le processus [145]. Mais un grand nombre de respirocytes indigestes pris dans le foie et la rate pourrait conduire à une hépatomégalie, une dilatation de la rate ou une nécrose d'organe. Aussi un blocage non spécifique intentionnel doit être évité dans la conception des respirocytes. Si, étant en état de marche, ils sont ingérés prématurément par les macrophages, ils doivent exécuter une procédure de libération [146] consistant par exemple à émettre du gaz (l'O<sub>2</sub> oxyde et inactive beaucoup de composants de la cellule comme les groupes sulfhydryles essentiels aux enzymes ; le CO<sub>2</sub> intoxique la cellule par acidose), à absorber l'oxygène, l'eau ou le glucose de la cellule (pour asphyxier, déshydrater ou affamer le prédateur) ou à purger les réservoirs de gaz (en soufflant une bulle de 6 microns, 25 % du volume d'un neutrophile de 10 microns pour provoquer une "indigestion").

Cependant, la matière sous forme de particules, si elle n'est pas recouverte de protéines sanguines, n'adhère pas à la paroi irrégulière (70 nm) couvrant les cellules des sinusoides hépatiques [147]. Dans les conditions normales, les éléments formés du sang, gouttelettes lipidiques, chylomicrons, etc; n'adhèrent pas non plus aux parois des sinuosités [147]. Si des surfaces adamantines peuvent être maintenues sèches ou rendues hydrophobes par du fibrinogène ou d'autres protéines du sang, ou peuvent être masquées de manière appropriée, alors des respirocytes physiquement intacts ne devraient pas être reconnus (ou phagocytés) par les cellules de Kupffer ou des macrophages ni induire la formation de cellules géantes. Les macrophages du foie et de la rate digèrent les globules rouges en mauvais état mais ne peuvent sans doute pas reconnaître les sites synthétiques de fixation des rotors en rotation rapide qui sont profondément enfoncés dans une structure passive en diamant.

---

<sup>5</sup> DLC : diamond-like carbon

Des respirocytes intacts mais sans activité biologique, plus petits que des hématies devraient franchir facilement la rate (où le sang, qui a percolé à travers un lit de macrophages dans la pulpe rouge est réinjecté dans la circulation par des fentes de 3 microns) et le foie. Les respirocytes sont beaucoup trop gros pour diffuser à travers les capillaires des glomérules et les ouvertures de la paroi endothéliale (60 nm) du rein : ils devraient donc traverser les reins sans être éliminés. Les respirocytes intacts devraient rester largement confinés à la circulation sanguine et peu passeront dans le système lymphatique, sauf peut-être par les poumons.

Les respirocytes qui ont perdu leur intégrité physique devraient être reconnus comme corps étrangers (et être enveloppés par des macrophages libres ou des cellules de Kupffer) car leurs surfaces exposées rugueuses attireront le marquage par les protéines du sang. Le retrait de fragments du sang se produit presque exclusivement dans le foie et la moelle rouge de la rate. Les particules de métal et de colorants ne sont pas métabolisées et restent dans le SRE presque indéfiniment [148]. Les fragments de respirocytes seront pour la plupart des tessons indigestes et pointus qui détruiront rapidement les macrophages qui les ingèrent en causant leur rupture et répandant leur cytoplasme. Il en résultera une inflammation locale et une probable émission d'agents chimiotactiles attirant des cellules mésenchymales sur le site, lesquelles se différencieront alors en fibroblastes, qui enfermeront les tessons dans une capsule sphérique granuleuse permanente insérée dans le tissu adjacent [149]. Heureusement, la désintégration des respirocytes devrait être excessivement rare (§ 5.1).

## **6 Applications**

Le respirocyte est un simple dispositif nanotechnologique dont les applications primaires incluent :

- la substitution du sang par transfusion ;
- le traitement de l'anémie les désordres néo- et périnataux et une gamme de maladies et d'états pulmonaires ;
- une contribution au succès de certaines interventions cardio et neurovasculaires agressives ;
- le diagnostic et le traitement des tumeurs ;
- la prévention de l'asphyxie ;
- le maintien de la respiration artificielle dans des environnements défavorables ;
- plusieurs autres applications sportives, vétérinaires, dans les conflits ou ailleurs.

### **6.1 Transfusions et perfusions**

Les respirocytes peuvent être le transporteur actif d'oxygène d'un substitut transfusable universel du sang : exempt de vecteurs des maladies (hépatites, maladies vénériennes, hématozoaires du paludisme, SIDA), entreposables sans limite et disponible aisément sans vérification de compatibilité. Avec les globules rouges mécaniques, comme avec d'autres substituts artificiels du sang, le traitement des témoins de Jéhovah et autres patients qui refusent la transfusion du sang naturel pour des motifs religieux est possible [42,150]. La pratique actuelle exige que les organes à transplanter le soient peu après leur prélèvement ; les respirocytes pourraient servir de perfusant longue durée pour préserver les tissus vivants, spécialement à basse température, pour des greffes (rein, moelle, foie et peau) et des transplantations d'organe.

### **6.2 Traitement de l'anémie**

Les respirocytes offrent avec leur capacité d'oxygénation un traitement symptomatique complet ou partiel de pratiquement toutes les formes d'anémie :

- l'anémie aiguë suite à une perte de sang soudaine (blessure ou intervention chirurgicale) ;



- les anémies secondaires dues à la typhoïde hémorragique, aux ulcères gastriques ou duodénaux ;
- les anémies chroniques progressives ou post-hémorragiques liées à des ulcères gastriques saignants (dont les ulcères dus aux ankylostomes), aux hémorroïdes, aux ménorragies, aux blessures de guerre ;
- les anémies héréditaires dont l'hémophilie, l'anémie falciforme, l'ictère hémolytique, la thalassémie, la leptocytose ou leptospirose, ... ;
- l'anémie hypochromique, l'anémie par déficience endocrinienne, les anémies pernicieuses et nutritionnelles ;
- les anémies résultant de maladies infectieuses comme les rhumatismes, la scarlatine, la tuberculose, la syphilis, les défaillances rénales chroniques et le cancer ou résultant de l'empoisonnement de l'hémoglobine par inhalation de monoxyde de carbone ;
- les anémies hémolytiques dont l'hémolyse chimique (due au paludisme, aux morsures de serpent, etc.), l'hémoglobinurie paroxystique et l'anémie hémolytique chronique due à l'hypersplénisme en relation avec la cirrhose du foie ;
- la leucémie et d'autres anémies idiopathiques ou toxiques causées par des produits chimiques, des radiations ou divers agents antimétaboliques ;
- des maladies provoquant une production excessive de globules rouges comme la polycythémie.

### **6.3 Troubles foetaux et pédiatriques**

Les respirocyles peuvent être utiles en médecine périnatale pour traiter, par exemple, l'anémie foétale (erythroblastosis foetalis), l'hémolyse néonatale ou l'asphyxie in utero due au détachement partiel du placenta ou à l'hypoxie de la mère en rétablissant la capacité de transport d'oxygène du sang foetal. L'asphyxie des nouveau-nés, due par exemple à la compression du cordon ombilical pendant la naissance, peut être pour l'enfant une privation fatale en oxygène ; un traitement prénatal par respirocyles pourrait la prévenir. Beaucoup de cas de mort subite du nourrisson, la principale cause de décès néonataux entre une semaine et un an (5 000/an aux Etats-Unis d'Amérique) et les syndromes de détresse respiratoire (3 000 morts/an) découlent d'une privation d'oxygène ou d'anomalies dans le contrôle automatique de la respiration, dont l'issue fatale pourrait être évitée par une dose thérapeutique de respirocyles. Ceux-ci pourraient aussi aider au traitement d'affections infantiles comme les quintes de toux, la mucoviscidose, les maladies cardiaques rhumatismales, et la fièvre rhumatismale, les malformations cardiaques congénitales et le croup.

### **6.4 Maladies respiratoires**

Des traitements courants utilisant les respirocyles pour réduire le besoin d'une respiration profonde et régulière pourraient améliorer l'état des malades victimes de virus et de maladies respiratoires variées :

- pneumonie, bronchopneumonie et pleuropneumonie ;
- pneumoconioses, dont l'asbestose, la silicose et la beryllose ;
- emphysème, empyema, abcès, œdème pulmonaire et pleurésie ;
- pleurodynia épidémique ;
- maladies du diaphragme : hernies, tétanos, hoquet ;
- hémorragies pulmonaires (hémoptisie, tuberculose, histoplasmosis chronique et rupture de bronche) ;
- bronchite et bronchiectasie ;
- atélectasies et pneumothorax ;
- obstruction chronique des poumons ;
- anévrisme artériel thoracique ;

- grippe, dyspnées et même laryngite, ronflement, pharyngite, rhume des foins et refroidissement.

Les respirocytes pourraient fournir un traitement symptomatique efficace à long terme et sans médicament de l'asthme et contribuer au traitement :

- des morsures de serpent hémotoxiques (vipère) et neurotoxiques (cobra) ;
- de l'hypoxie, de la polycythémie du stress et des désordres pulmonaires résultant de la consommation de cigarettes et de l'alcoolisme ;
- des goitres et cancers du poumon, du pharynx ou de la thyroïde ;
- des péricardites, thromboses coronariennes, de l'hypertension et même des névroses cardiaques<sup>6</sup> ;
- de l'obésité, de l'angine phlegmoneuse, du botulisme, de la diphtérie, de la syphilis tertiaire, de la sclérose latérale amyotrophique, de l'urémie, de la coccidioidomycose et des chocs anaphylactiques ;
- de la maladie d'Alzheimer quand l'hypoxie en accélère le développement.

Les respirocytes pourraient aussi être utilisés pour traiter les cas de faible oxygénation du tissu nerveux liée au rétrécissement artériel de l'artériosclérose avancée, aux coups, à l'atteinte (par maladie ou blessure) de la formation réticulée dans la medulla oblongata qui contrôle l'automatisme de la respiration), les traumatismes à la naissance qui conduisent à la paralysie cérébrale et le ralentissement du flux sanguin observé chez les personnes vieillissantes.

Même la poliomyélite, qu'on rencontre encore chez les populations de Tiers Monde sans vaccination, pourrait être traitée à l'aide des respirocytes et d'un stimulateur pour le diaphragme.

### **6.5 Applications cardio- et neurovasculaires**

Une infusion de respirocytes serait utile pour maintenir l'oxygénation des tissus pendant les anesthésies, les angioplasties coronariennes [151], les transplantations d'organes, la séparation des frères siamois, d'autres actes chirurgicaux cardiaques ou cérébraux agressifs [152-153], pendant le rétablissement post-chirurgical des fonctions cardiaques et les dérivations cardiopulmonaires [154]. Les respirocytes pourraient prévenir la gangrène et la cyanose, par exemple, durant le traitement de la maladie de Raynaud dans lequel des spasmes des vaisseaux sanguins superficiels des extrémités rendent les doigts et orteils cyanosés puis blancs et engourdis. Des dosages thérapeutiques de respirocytes peuvent retarder l'ischémie cérébrale en cas de défaillance cardiaque ou pulmonaire et pourraient traiter utilement la sénilité qui apparemment recule chez les patients traités à l'oxygène hyperbare [156].

### **6.6 Diagnostic et traitement des tumeurs**

Les cancéreux sont habituellement anémique. Les rayons X et plusieurs agents chimiothérapeutiques ont besoin d'oxygène pour atteindre leur toxicité cellulaire maximale ; aussi l'augmentation des niveaux d'oxygénation des systèmes du corps, dans les limites permises par l'emploi des respirocytes, pourrait améliorer le pronostic et le résultat du traitement [157-158]. Des émulsions de fluorocarbones ont été utilisées pour tester la tension partielle d'oxygène des tissus ; de même, les respirocytes pourraient établir une carte complète de la pression sanguine d'un patient ou le profil en oxygène, en enregistrant les données directes des capteurs dans chaque ordinateur en même temps que les informations sur la position enregistrée à partir d'un réseau de transpondeurs acoustiques précisément positionnés qui seraient ultérieurement retirés par filtration pour restituer leurs données [9]. Un réseau similaire de transmetteurs acoustiques, rendant possible une autotriangulation des respirocytes

---

<sup>6</sup> NdT nevrosis : nécrose semble plus vraisemblable que névrose, s'agissant du cœur.

et une connaissance précise de leur position, permettrait une suroxygénation préférentielle de tissus particuliers, augmentant l'efficacité du traitement.

## **6.7 Asphyxie**

Les respirocytes permettent la respiration dans des environnements pauvres en oxygène ou dans le cas où la respiration normale est physiquement impossible. Une injection rapide de dose thérapeutique ou l'infusion préalable d'une dose additive réduirait beaucoup le nombre de morts par étouffement (3 200 / an aux USA) et la pratique des trachéotomies d'urgence, de la respiration artificielle et des ventilateurs mécaniques. Le dispositif fournit un excellent traitement prophylactique pour la plupart des formes d'asphyxie, dont la noyade, la strangulation, l'électrocution (les respirocytes sont purement mécaniques), les agents paralysants par blocage nerveux, l'empoisonnement par le monoxyde de carbone, les opérations de sauvetage subaquatiques, l'inhalation de fumée ou la lutte contre les incendies, les surdoses d'anesthésiques ou de barbituriques, le confinement dans des espaces clos (réfrigérateurs, cabinets, chambres fortes, mines, sous-marins) et l'obstruction des voies respiratoires par un morceau de viande ou une prise de tabac à chiquer coincée dans le larynx, par inhalation de vomi ou par un sac plastique sur la tête d'un enfant. Les respirocytes améliorent les réactions physiologiques normales qui ont pour médiateurs les capteurs neuroépithéliaux pulmonaires d'oxygène situés dans la muqueuse des voies aériennes des poumons chez l'homme et l'animal [79].

Une conception alternative aux infusions additive est une population thérapeutique de respirocytes qui se charge et se décharge dans un nanopoumon artificiel implanté dans la poitrine, lequel échange les gaz directement avec les poumons naturels ou avec une source externe de gaz. ( Un oxygénateur intravasculaire utilisant un faisceau de membranes à fibres creuses insérées dans la veine cave (qui fonctionne comme un poumon artificiel) est en essai clinique [160]). Avec 80% de volume de stockage à 1 000 atm, un nanopoumon de 250 cm<sup>3</sup> fournirait, sans être gênant, l'oxygène nécessaire pendant 20 minutes à 7 heures, selon l'activité. En sacrifiant un poumon naturel pour dégager de la place dans le thorax, un nanopoumon de 3250 cm<sup>3</sup> augmente l'autonomie intracorporelle en oxygène jusqu'à 4 -87 heures, encore extensible de 40% en montant la pression de service à 10 000 atm.

## **6.8 Plongée subaquatique**

Les respirocytes pourraient servir d'appareil de plongée in vivo. Avec une dose additive ou un nanopoumon, le plongeur plonge en apnée pendant 12 min à quatre heures, remonte à la surface et s'hyperventile pendant six à dix minutes pour se recharger en oxygène et redescend. (Les mêmes considérations s'appliqueraient dans l'espace).

Les respirocytes peuvent supprimer le plus grave danger de la plongée, la maladie de la décompression ou du caisson (les "bends"). Elle est due à la formation de bulles d'azote dans le sang pendant la remontée, la tension du gaz dissous à grande profondeur devenant supérieure à la pression partielle pulmonaire à la remontée. La décompression en sécurité peut nécessiter plusieurs heures. A saturation complète, le corps d'un plongeur contient environ  $(d - d_0) \times 10^{21}$  molécules d'azote (N<sub>2</sub>)

d : profondeur maximum atteinte en mètres

d<sub>0</sub> : limite de la plongée sans palier (10 mètres).

Une dose thérapeutique de respirocytes reconfigurée pour absorber l'azote à la place de l'oxygène et du gaz carbonique permettrait la désaturation complète en une seconde après une plongée à 26 mètres, bien qu'en pratique le rejet complet de l'azote prendrait une minute, le temps de circulation du sang.

Chaque dose thérapeutique supplémentaire absorbe l'azote correspondant à une augmentation de seize mètres de la profondeur. Comme la saturation complète à une profondeur donnée nécessite de 6 à 24 heures, les cas habituels de maladie de la décompression se produisent dans des tissus loin d'être saturés, le soulagement sera obtenu avec des doses beaucoup plus faibles de respirocyles. Le même système peut être employé pour s'affranchir temporairement de la narcose à l'azote, étant donné que ce gaz a un effet anesthésiant à partir de 33 mètres.?

La respiration directe d'eau, même avec l'aide de respirocyles, pose différents problèmes difficiles : l'eau contient au plus un trentième de l'oxygène contenu dans l'air, aussi faudrait-il aspirer trente fois plus d'eau que d'air pour absorber la même quantité d'oxygène ; les poumons remplis d'eau pèsent trois fois plus que remplis d'air, aussi n'est-il possible de "s'hyperaquifier" que trois fois moins vite qu'on s'hyperventile. Il en résulte que l'homme inhalant de l'eau ne peut absorber que 1 à 10% de l'oxygène nécessaire pour survivre et travailler. Les couches d'eau profonde peuvent être pauvres en oxygène qui se répand par diffusion. Dans les marais ou sous la couche thermocline des lacs, la circulation de l'eau et la concentration en oxygène sont faibles, cette situation étant aggravée par la présence d'organismes consommant ce gaz et de réactions d'oxydation liées aux dépôts, à la pollution ou à la croissance des algues. Le réflexe d'immersion et la présence d'eau dans le larynx inhibent la respiration et ferment la glotte. En outre, les flore et faune microscopiques ingérées avec l'eau (protozoaires, diatomées, dinoflagellées, zooplancton et larves) pourraient s'installer dangereusement dans le tissu pulmonaire.

## **6.9 Autres applications**

Les respirocyles permettraient d'atteindre de nouveaux records sportifs, car ils peuvent délivrer l'oxygène aux tissus plus vite que ne le peuvent les poumons pendant la durée de l'épreuve. Ce serait particulièrement utile pour la course, la natation et autres sports à base d'endurance et dans les sports de compétition comme le basket, les footbolls où de longues périodes d'effort soutenu sont exigées. (Le dopage sanguin [161] et les injections d'érythropoïétine [112-113, 162], bien qu'illégaux, sont courants chez les athlètes qui veulent améliorer l'oxygénation des tissus et par là leurs performances.) La capacité aérobie de l'homme déclinant avec l'âge, de 6,9 kg O<sub>2</sub>/jour à 25 ans à 3,7kg O<sub>2</sub>/j à 75 [163], les respirocyles pourraient améliorer la pratique sportive des personnes âgées.

L'oxygénation hyperbare par les respirocyles pourrait aider au traitement d'infections aérobies [165] et anaérobies [164] comme la myonécrose, l'ostéomyélite réfractaire chronique et les infections nécrosantes des tissus mous, dont les ulcères cutanés. Elle aiderait au rétablissement des brûlés en réduisant le besoin en fluides et en greffes, en améliorant la microcirculation [165].

Les substituts artificiels du sang pourraient aussi trouver un vaste champ d'application en médecine vétérinaire <sup>7</sup> [166-167], spécialement dans les cas de traumatismes<sup>8</sup> et de défaillance rénale quand une transfusion est nécessaire. Ils seraient également utiles sur le champ de bataille pour traiter les hémorragies ou améliorer les performances du personnel. Avalés sous forme de pilules, les respirocyles pourraient soigner efficacement, quoique temporairement, les flatulences dont les gaz sont constitués d'air ingéré et du CO<sub>2</sub> venant de la fermentation stomacale. Après les modifications adéquates, la technologie des respirocyles pourrait fournir un système d'administration de médicaments par ingestion ou injection précisément dosée, à maîtriser les glycérides du sérum, les acides gras ou les lipoprotéines, l'acidocétose du diabète, les diabètes de la femme enceinte et d'autres régimes.

---

<sup>7</sup> Veterinary medicine

<sup>8</sup> vehicular trauma

## **6.10 Essai du dispositif et approbation fédérale (US/FDA)**

Comme le respirocyte fonctionne par pompage mécanique, non par action chimique et n'est pas métabolisé dans l'exercice de ses fonctions, il est clair qu'il s'agit d'un appareil et non d'un médicament selon le Federal Food, Drug and Cosmetic Act (21 U.S.C. P 321(h)) [168]. Les appareils sont régis par les dispositions des amendements sur les appareils médicaux de 1976, l'acte de 1990 sur les appareils médicaux sécurisés et les amendements sur les appareils médicaux de 1992 [169].

Pour que la FDA<sup>9</sup> approuve et licence un substitut du sang, l'efficacité et la sûreté de celui-ci doivent être agréés par le Bureau d'évaluation des appareils de la FDA au vu de données pré-cliniques et cliniques [169] qui justifient une demande d'approbation avant mise sur le marché. En 1990, le Centre des évaluations et recherches biologiques de la FDA édita un document indiquant les caractéristiques critiques pour les transporteurs artificiels d'oxygène [170]. Ce document ne traite pas des appareils mais beaucoup de ses recommandations leur sont applicables. La FDA recommande d'abord un programme d'essais biologiques in vitro pour caractériser le produit, incluant des tests sur la génération de radicaux oxygène, l'activation de systèmes enzyme/cellule à déclenchement comme les coagulations en cascades complément/kinine, l'activation des macrophages, neutrophiles et plaquettes, la libération de médiateurs comme l'histamine, le facteur III plaquettaire, la thrombine, les leukotriènes et interleukines. Ensuite viennent des tests de sécurité chez l'animal pour déterminer les effets sur la circulation microvasculaire et l'endothélium, l'évaluation de la néphrotoxicité, des essais sur la chimie du sang et des études hématologiques. Enfin, des études chez l'homme peuvent commencer à faible dose, la circulation, l'immunité et d'autres paramètres observés chez l'animal étant soigneusement contrôlés : médiateurs de l'inflammation, interactions spécifiques avec les maladies humaines, comparaison du profil de sécurité avec celui d'autres transporteurs d'oxygène artificiels approuvés et avec les globules rouges. Comme le respirocyte est un dispositif purement mécanique d'un micron de diamètre, il n'y a pas à se soucier des interférences électromagnétiques [171].

Il est habituellement extrêmement difficile d'obtenir une autorisation d'essai d'un dispositif (Investigational Device Exemption) pour les applications cliniques de nouveaux appareils ; le coût d'un appareil produit pour 100 dollars peut facilement dépasser 1 000 dollars [172]. La FDA a une politique d'examen expéditive pour les appareils jugés médicalement importants [169] mais chaque application proposée doit subir ses essais de terrain et cliniques séparés. Aussi la responsabilité sur les produits est telle aux Etats-Unis qu'aucun médecin n'utilise un dispositif expérimental s'il n'est sûr de son efficacité et de sa sûreté –quiconque ne serait pas en possession des données pour le prouver est sujet à des poursuites, des amendes multiples jusqu'à un million de dollars [173] et l'interdiction d'exercer. A l'évidence, il y a un formidable programme d'essais de laboratoire de terrain et clinique avant que le respirocyte soit jugé bon pour le service médical ordinaire.

## **7 Résumé et conclusions**

Cette étude présente une conception préliminaire pour un dispositif médical simple qui fonctionne comme une hématie artificielle, dupliquant les fonctions de transport de l'oxygène et du gaz carbonique des globules rouges tout en éliminant largement le besoin de traiter l'acidité carbonique puisque le gaz carbonique est transporté mécaniquement plutôt que chimiquement dans le sang. Le respirocyte dans sa définition de base peut apporter 236 fois

---

<sup>9</sup> NdT : FDA : Food and drug administration : office gouvernemental des USA qui contrôle les produits alimentaires et médicaments.

plus d'oxygène aux tissus par unité de volume que les globules rouges naturels et jouit du même avantage pour le transport du gaz carbonique.

Le respirocyte est construit solidement en diamant, emploie une variété de capteurs chimiques, de pression et de température, dispose d'un nanoordinateur embarqué qui lui permet des réponses et des comportements complexes, peut être reprogrammé à distance par des signaux acoustiques externes qui modifient les protocoles ou en installent de nouveaux, tire son énergie des abondantes ressources du glucose sanguin. Il est donc capable d'agir intelligemment et virtuellement sans limite de temps, à l'inverse des globules rouges qui ont une durée de vie naturelle de quatre mois.

Ce dispositif ne peut encore être construit. Cependant, quand les avancées en ingénierie moléculaire permettront sa construction, le respirocyte artificiel trouvera des douzaines d'applications, médicales pour les thérapies comme dans les situations critiques, sans compter d'autres domaines.

## 8. Remerciements

L'auteur remercie [Ralph C. Merkle](#) et quatre correcteurs anonymes pour leurs utiles commentaires sur une précédente version de ce manuscrit.

## 9. Références

1. Drexler KE. [Molecular engineering: an approach to the development of general capabilities for molecular manipulation](#). *Proc. NAS USA* 1981; **78**:5275-5278.
2. Drexler KE. [Nanosystems: Molecular Machinery, Manufacturing, and Computation](#). New York: John Wiley & Sons, 1992.
3. Fahy GM. Short-term and long-term possibilities for interventive gerontology. *Mt Sinai J Med* 1991; **58**:328-340.
4. Fahy GM. Molecular nanotechnology. *Clin Chem* 1993; **39**:2011-2016.
5. Fahy GM. Molecular nanotechnology and its possible pharmaceutical implications. In: Bezold C, Halperin JA, Eng JL, eds. *2020 Visions: Health Care Information Standards and Technologies*. Rockville MD: U.S. Pharmacopeial Convention, 1993:152-159.
6. Lampton C. Nanotechnology promises to revolutionize the diagnosis and treatment of diseases. *Genetic Eng News*, 1 Apr 1995;**4**,23.
7. Freitas RA Jr. The future of computers. *Analog* (Mar 1996); **116**:57-73.
8. Dewdney AK. Nanotechnology -- wherein molecular computers control tiny circulatory submarines. *Sci Am* (Jan 1988); **258**:100-103.
9. Merkle RC. Nanotechnology and medicine. In: Klatz RM, ed. *Advances in Anti-Aging Medicine, Vol. 1*, Liebert Press, 1996:277-286. (<http://nano.xerox.com/nanotech/nanotechAndMedicine.html>)
10. Drexler KE. [Engines of Creation: The Coming Era of Nanotechnology](#). New York: Anchor Press/Doubleday, 1986.
11. Merkle RC. [The molecular repair of the brain](#). *Cryonics* (Jan 1994):16-31 (Part I); (Apr, 1994):20-32 (Part II).
12. Fahy GM. Possible medical applications of nanotechnology. In: Crandall BC, Lewis J, eds. [Nanotechnology: Research and Perspectives](#), Cambridge MA: MIT Press, 1992:251-267.
13. Merkle RC. The technical feasibility of cryonics. *Med Hypoth* 1992; **39**:6-16.
14. Fahy GM. A realistic scenario for nanotechnological repair of the frozen human brain. In: Alcor Life Extension Foundation. *Cryonics: Reaching for Tomorrow*, Appendix B. Scottsdale AZ: Alcor Foundation, 1993.
15. Wowk B. Cell repair technology. *Cryonics* (July 1988).

16. Devlin TM, ed. *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations*. New York: John Wiley & Sons, 1986.
17. Sellards AM, Minot GR. Injection of haemoglobin in man and its relation to blood destruction, with special reference to the anemias. *J Med Res* 1916; **34**:496-594.
18. Hodgson J. Substitutes for human blood. *Biotechnology* 1991; **9**:69.
19. Eastaugh SR. Valuation of the benefits of risk-free blood. *Intl J Technol Assess Health Care* 1991; **7**:51-57.
20. Jones JA. Red blood cell substitutes: current status. *Brit J Anaesthes* 1995; **74**:697-703.
21. Zuck TF, Riess JG. Current status of injectable oxygen carriers. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1994; **31**:295-324.
22. Chang TMS, Geyer R, eds. *Blood Substitutes*. New York: Marcel Dekker, 1988; and Chang TMS, ed. *Blood Substitutes II*. New York: Marcel Dekker, 1992.
23. Tsuchida E, Komatsu T. Synthetic hemes. *Meth Enzymol* 1994; **231**:167-193,685-687.
24. Chang TMS. Artificial cells: 35 years. *Art Organs* 1992; **16**:8-12.
25. Hunt CA, Burnette RR, MacGregor RD, Strubbe AE, Lau DT, Taylor N, Kawada H. Synthesis and evaluation of a prototypal artificial red cell. *Science* 1985; **230**:1165-1168.
26. Rudolph AS, Cliff RO. Dry storage of liposome-encapsulated hemoglobin: a blood substitute. *Cryobiology* 1990; **27**:585-590.
27. Rudolph AS, Stratton LP, Goins B, Ligler F. Liposome-encapsulated hemoglobin: efficacy and stabilization. In: *The Red Cell: Seventh Ann Arbor Conference*. New York: Alan R. Liss, 1989:435-455.
28. Service RF. Small spheres lead to big ideas. *Science* 1995; **267**:327-329.
29. Clark JC Jr, Gollan F. Survival of mammals breathing organic liquids equilibrated with oxygen at atmospheric pressure. *Science* 1966; **152**:1755-1757.
30. Geyer RP. Bloodless rats through the use of artificial blood substitutes. *Fed Proc* 1975; **34**:1499-1505.
31. Marwick C. More than a trickle of interest in blood substitutes. *JAMA* 1994; **271**:895.
32. Griffiths E, Cortes A, Gilbert N, Stevenson P, MacDonald S, Pepper D. Haemoglobin-based blood substitutes and sepsis. *Lancet* 1995; **345**:158-160.
33. Litwin MS, Walter CW, Ejarque P, Reynolds ES. Synergistic toxicity of Gram-negative bacteria and free colloidal hemoglobin. *Annals Surg* 1963; **157**:485-493.
34. Bornside GH, Cohn I. Hemoglobin as a bacterial virulence-enhancing factor in fluids produced in strangulated intestinal obstruction," *Am Surg* 1968; **34**:63-67.
35. Marks DH, Patressi J, Chaudry IH. Effects of pyridoxylated stabilized stroma-free hemoglobin solution on the clearance of intravascular lipid by the reticuloendothelial system. *Circ Shock* 1985; **16**:165-172.
36. Feola M, Simoni J, Dobke M, et al. Complement activation and the toxicity of stroma-free hemoglobin solutions in primates. *Circ Shock* 1988; **25**:275-290.
37. Alayash AI, Brockner Ryan BA, Fratantoni JC, et al. Redox reactivity of modified hemoglobins with hydrogen peroxide and nitric oxide: toxicological implications. *Blood Subst Art Cells Immobil Biotech* 1994; **22**:373-386.
38. Vercellotti GM, Balla G, Balla J, et al. Heme and the vasculature: an oxidative hazard that induces antioxidant defenses in the endothelium. *Blood Subst Art Cells Immobil Biotech* 1994; **22**:207-213.
39. Rabiner SF, O'Brien K, Peskin GM, Friedman LH. Further studies on stroma-free hemoglobin solution," *Annals Surg* 1970; **171**:615-622.
40. Savitsky JP, Doczi J, Black J, Arnold JD. A clinical safety trial of stroma-free hemoglobin. *Clin Pharmacol Therapeut* 1978; **23**:73-80.
41. Simoni J, Tran R, Feola M, Buckner M, Canizaro PC. Macrophage reactions to hemoglobin solution. *Biomaterials Art Cells Art Organs* 1989; **17**:700.

42. Kale PB, Sklar GE, Wesolowicz LA, DiLisio RE. Fluosol: therapeutic failure in severe anemia. *Annals Pharmacotherapy* 1993; **27**:1452-1454.
43. Feynman RP. [There's plenty of room at the bottom](#). *Eng. and Sci.* 1960; **23**:22-36.
44. Regis E. *Nano: The Emerging Science of Nanotechnology*. New York: Little, Brown & Company, 1995.
45. [Foresight Update, No. 24, 1996:1-2](#)
46. Eigler DM, Schweizer EK. Positioning single atoms with a scanning tunneling microscope. *Nature* 1990; **344**:524.
47. Sheehan PE, Lieber CM. Nanotribology and nanofabrication of MoO<sub>3</sub> structures by atomic force microscopy. *Science* 1996; **272**:1158-1161.
48. Lee GU, Chrisey LA, Colton RJ. Direct measurement of the forces between complementary strands of DNA. *Science* 1994; **266**:771-773.
49. Boland T, Ratner BD. Direct measurement of hydrogen bonding in DNA nucleotide bases by atomic force microscopy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1995; **92**:5297-5301.
50. Ball P. *Designing the Molecular World: Chemistry at the Frontier*. Princeton NJ: Princeton University Press, 1994.
51. Zhang Y, Seeman NC. Construction of a DNA-truncated octahedron. *J. Amer. Chem. Soc.* 1994; **116**:1661-1669.
52. Seeman NC. Molecular craftwork with DNA. *The Chemical Intelligencer*, July 1995:38-47.
53. Pease R. Nanoworlds are made of this. *New Scientist*, June 1995; **146**:26-29.
54. Ashton PR, Bissell RA, Spencer N, Stoddart JF, Tolley MS. Towards controllable molecular shuttles. *Synlett* 1992:914-926
55. Stoddart F. Making molecules to order. *Chemistry in Britain* 1991; **27**:714-718.
56. Lehn J-M. *Supramolecular Chemistry: Concepts and Perspectives*. New York: VCH, 1995.
57. Kim CJ, Pisano AP, Muller RS, Lim MG. Design fabrication and testing of a polysilicon microgripper. *Microstructures, Sensors, and Actuators* (ASME, New York) 1990; (DSC-19):99-109.
58. Teshigahara A, Watanabe M, Kawahara N, Ohtsuka Y, Hattori T. Performance of a 7-mm microfabricated car. *J. Microelectromechanical Systems* 1995; **4**:76-80.
59. Bard AJ. *Integrated Chemical Systems: A Chemical Approach to Nanotechnology*. New York: John Wiley & Sons, 1994.
60. Ralph C. Merkle, Computer Science Lab, Xerox Corporation, 3333 Coyote Hill Road, Palo Alto, CA 94304; private communication, 1995.
61. Porter DI, Goldberg WA. Regulation of erythropoietin production. *Exp Hematol* 1993; **21**:399-404.
62. Redmond JR. The respiratory function of hemocyanin in crustacea. *J Cell Comp Physiol* 1955; **46**:209-242.
63. Mill PJ. *Respiration in the Invertebrates*. New York: St. Martin's Press, 1972.
64. Wolvekamp HP. The evolution of oxygen transport. In: Macfarlane RG, Robb-Smith AHT, eds. *Functions of the Blood*. New York: Academic Press, 1961:1-72.
65. Carlisle DB. Vanadium and other metals in ascidians. *Proc. Royal Soc B* 1968; **171**:31-42.
66. Baldwin E. *An Introduction to Comparative Biochemistry*, 4th Edition. Cambridge University Press, 1964.
67. Hearon JZ, Burke D, Schade AL. Physicochemical studies of reversible and irreversible complexes of cobalt, histidine, and molecular oxygen. *J Natl Cancer Inst* 1949; **9**:337-377.
68. Hoffman BM, Petering DH. Coboglobins: oxygen-carrying cobalt-reconstituted hemoglobin and myoglobin. *Proc. NAS* 1970; **67**:637-643.



69. Martell AE, Calvin M. *Chemistry of the Metal Chelate Compounds*. New York: Prentice-Hall, 1952.
70. Michaelis L. Molecular oxygen as a ligand in metal porphyrins and other metal-complex compounds. *Fed Proc* 1948; **7**:509-514.
71. De Sanctis G et al. Mini-myoglobin: electron paramagnetic resonance and reversible oxygenation of the cobalt derivative. *J Mol Biol* 1991; **222**:637-643.
72. Lapidot A, Irving CS. The electronic structure of coordinated oxygen. In: Hayaishi O, ed. *Molecular Oxygen in Biology: Topics in Molecular Oxygen Research*. New York: American Elsevier, 1974.
73. Falk JE. *Porphyrins and Metalloporphyrins*. New York: Elsevier Publishing, 1964.
74. Kunz K. *Berliner* 1927; **60**:367.
75. Vaska L. Oxygen-carrying properties of a simple synthetic system. *Science* 1963; **140**:809-810.
76. Vaska L, Chen S, Senoff CV. Oxygen-carrying iridium complexes: kinetics, mechanism, and thermodynamics. *Science* 1971; **174**:587-589.
77. Kellerman R, Hutta PJ, Klier K. Reversible oxygen binding by divalent chromium (II) ion exchanged molecular sieve. *J Amer Chem Soc* 1974; **96**:5946-5947.
78. Busch D. *J Amer Chem Soc* 1983; **105**:298.
79. Youngson C, Nurse C, Yeger H, Cutz E. Oxygen sensing in airway chemoreceptors. *Nature* 1993; **365**:153-155.
80. Zubay G. *Biochemistry*, Second Edition. New York: Macmillan, 1988.
81. Baldwin SA, Lienhard GE. Purification and reconstitution of glucose transporter from human erythrocytes. *Methods Enzymol* 1989; **174**:39-50.
82. Simpson IA, Cushman SW. Hormonal regulation of mammalian glucose transport. *Ann Rev Biochem* 1986; **55**:1059-1089.
83. Burton AC. The mechanics of the red cell in relation to its carrier function. In: Wolstenholme GEW, Knight J, eds. *Circulatory and Respiratory Mass Transport*. Boston: Little, Brown and Company, 1969:67-81.
84. Evans E, Fung YC. Improved measurements of the erythrocyte geometry. *Microvasc. Res.* 1972; **4**:335-347.
85. Wisse E. Ultrastructure and function of Kupffer cells and other sinusoidal cells in the liver. In: Wisse E, Knook DL, eds. *Kupffer Cells and Other Liver Sinusoidal Cells*. New York: Elsevier/North-Holland Biomedical Press, 1977:33-60.
86. Berg HC, Purcell EM. Physics of chemoreception. *Biophys J* 1977; **20**:193-219.
87. Wilson JA, *Principles of Animal Physiology*. New York: Macmillan, 1972.
88. Ter Haar GR. Biological effects of ultrasound in clinical applications. In: Suslick KS, ed. *Ultrasound: Its Chemical, Physical and Biological Effects*. New York: VCH Publishers, 1988.
89. Ayers E. An automatic chemical plant. *Sci Am* 1952; **187**:82-88.
90. Luke HD. *Automation for Productivity*. New York: John Wiley & Sons, 1972.
91. Merkle RC. [Reversible electronic logic using switches](#). *Nanotechnology* 1993; **4**:21-40.
92. Nunn JF. *Nunn's Applied Respiratory Physiology*, 4th Edition. London: Butterworth-Heinemann Ltd., 1993.
93. Hardy JD. Temperature regulation, exposure to heat and cold, and effects of hypothermia. In: Lehmann JF, ed. *Therapeutic Heat and Cold*, Third Edition. Baltimore: Williams & Wilkins, 1982:172-198.
94. Lee GR, Bithell TC, Foerster J, Athens JW, Lukens JN, eds. *Wintrobe's Clinical Hematology*, Ninth Edition. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993.
95. Weihe WH, ed. *Physiological Effects of High Altitude*. New York: Macmillan, 1964.

96. Erslev AJ. Secondary polycythemia (erythrocytosis). In: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, eds. *Williams Hematology*, Fifth Edition. New York: McGraw-Hill, 1995:714-726.
97. Hillman RS. Acute blood loss anemia. In Ernest Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, eds. *Williams Hematology*, Fifth Edition. New York: McGraw-Hill, 1995:704-708.
98. Modell JH, Moya F. Effects of volume of aspirated fluid during chlorinated water fresh water drowning. *Anesthesiol* 1966; **27**:662-672.
99. Drexler KE, Peterson C, Pergamit G. [Unbounding the Future: The Nanotechnology Revolution](#). New York: William Morrow, 1991.
100. Goldsmith HL, Turitto VT. Rheological aspects of thrombosis and haemostasis: basic principles and applications. *Thromb Haemostasis* 1986; **55**:415-435.
101. Fishbein M. *Popular Illustrated Medical Encyclopedia*. New York: Doubleday, 1979.
102. Jia L, Bonaventura C, Bonaventura J, Stamler JS. S-nitrosohaemoglobin: a dynamic activity of blood involved in vascular control. *Nature* 1996; **380**:221-226.
103. Smit MH, Cass AEG. Cyanide detection using a substrate-regenerating, peroxidase-based biosensor. *Analytic Chem* 1990; **62**:2429-2436.
104. Yanagida Y, Fujiwara S, Mizoi Y. Differences in the intercranial pressure caused by a blow and/or a fall -- an experimental study using physical models of the head and neck. *Forensic Sci Intl* 1989; **41**:135-145.
105. Allen ME, Weir-Jones I, Motiuk DR, Flewin KR, Goring RD, Kobetitch R, Broadhurst A. Acceleration perturbations of daily living: a comparison to whiplash. *Spine* 1994; **19**:1285-1290.
106. Erslev AJ. In vitro production of erythropoietin by kidneys perfused with a serum-free solution. *Blood* 1974; **44**:77-85.
107. Erslev AJ, Beutler E. Production and destruction of erythrocytes. In: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, eds., *Williams Hematology*, Fifth Edition. New York: McGraw-Hill, 1995:425-441.
108. Denny WF, Flanagan WJ, Zukoski CF III. Serial erythropoietin studies in patients undergoing renal homotransplantation. *J Lab Clin Med* 1966; **67**:386-397.
109. Hallberg L, Magnusson B. The etiology of sports anemia. *Acta Medica Scand* 1984; **216**:145-148.
110. Mengel CE, Kann HE Jr., Heyman A, Metz E. Effects of in vivo hyperoxia on erythrocytes. II. Hemolysis in a human after exposure to oxygen under high pressure. *Blood* 1965; **25**:822-829.
111. Tavassoli M. Anemia of spaceflight. *Blood* 1982; **60**:1059-1067.
112. Ekblom B, Berglund B. Effect of erythropoietin administration on maximal aerobic power. *Scand J Med Sci Sports* 1991; **1**:88-93.
113. Berglund B, Ekblom B. Effect of recombinant human erythropoietin treatment on blood pressure and some haematological parameters in healthy men. *J Internal Med* 1991; **229**:125-130.
114. Bowling RA. A theoretical review of particle adhesion. In: Mittal KL, ed. *Particles on Surfaces I. Detection, Adhesion, and Removal*. New York: Plenum Press, 1988:129-142.
115. Baier RE. Selected methods of investigation for blood-contact surfaces. In: Leonard EF, Turitto VT, Vroman L, eds. *Blood in Contact with Natural and Artificial Surfaces. Annals of the New York Academy of Sciences* 1987; **516**:68-77.
116. Ware JA, Coller BS. Platelet morphology, biochemistry, and function. In: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, eds. *Williams Hematology*, Fifth Edition. New York: McGraw-Hill, 1995:1161-1201.
117. Ruggeri ZM. Mechanisms of shear-induced platelet adhesion and aggregation. *Thromb Haemostasis* 1993; **70**:119-123.

118. Kroll MH, Hellums JD, Guo Z, Durante W, Razdan K, Hrbolich JK, Schafer AI. Protein kinase C is activated in platelets subjected to pathological shear stress. *J Biol Chem* 1993; **268**:3520-3524.
119. Ikeda Y, Handa M, Kawano K, Kamata T, Murata M, Araki Y, Anbo H, Kawai Y, Watanabe K, Sakai K, Ruggeri ZM. The role of von Willebrand factor and fibrinogen in platelet aggregation under varying shear stress. *J Clin Invest* 1991; **87**:1234-1240.
120. Ikeda Y, Murata M, Araki Y, Watanabe K, Ando Y, Itagaki I, Mori Y, Ichitani M, Sakai K. Importance of fibrinogen and platelet membrane glycoprotein IIb/IIIa in shear-induced platelet aggregation. *Thromb Res* 1988; **51**:157-163.
121. Moake JL, Turner NA, Stathopoulos NA, Nolasco L, Hellums JD. Shear-induced platelet aggregation can be mediated by vWF released from platelets, as well as by exogenous large or unusually large vWF multimers, requires adenosine diphosphate, and is resistant to aspirin. *Blood* 1988; **71**:1366-1374.
122. Moake JL, Turner NA, Stathopoulos NA, Nolasco LH, Hellums JD. Involvement of large plasma von Willebrand factor (vWF) multimers and unusually large vWF forms derived from endothelial cells in shear stress-induced platelet aggregation. *J Clin Invest* 1986; **78**:1456-1461.
123. National Materials Advisory Board. *Status and Applications of Diamond and Diamond-Like Materials: An Emerging Technology, Report of the Committee on Superhard Materials, NMAB-445*, National Academy Press, 1990.
124. De Robertis EDP, De Robertis EMF. *Cell and Molecular Biology*, Eighth Edition. Philadelphia: Lea & Febiger, 1987.
125. Chien S. Shear dependence of effective cell volume as a determinant of blood viscosity. *Science* 1970; **168**:977-979.
126. Pitt WG, Park K, Cooper SL. Sequential protein adsorption and thrombus deposition on polymeric biomaterials. *J. Colloid Interface Sci.* 1986; **111**:343-362.
127. Anderson JW, Bonfield TL, Ziats NP. Protein adsorption and cellular adhesion and activation on biomedical polymers. *Intl J Art Organs* 1990; **13**:375-382.
128. Sevastianov VL. Role of protein adsorption in blood compatibility of polymer. *CRC Crit Rev Biocompat* 1988; **4**:109-154.
129. Shinoda BA, Mason RC. Reaction of blood with artificial surfaces of hemodialyzers: studies of human blood with platelet defects or coagulation factor deficiencies. *Biomaterials Med Dev Art Organs* 1978; **6**:305-329.
130. Roohk HV, Nakamura M, Hill RL, Hung EK, Bartlett RH. A thrombogenic index for blood contact materials. *Trans Am Soc Art Internal Organs* 1977; **23**:152-161.
131. Weiss HJ, Rogers J. Fibrinogen and platelets in the primary arrest of bleeding. *New Eng J Med* 1971; **285**:369-374.
132. Tang L, Eaton JM. Adsorbed fibrinogen triggers acute inflammatory responses to biomaterials. *J Exp Med* 1993; **178**:2147-2156.
133. Tang L, Lucas AH, Eaton JW. Inflammatory responses to implanted polymeric biomaterials: role of surface-adsorbed immunoglobulin G. *J Lab Clin Med* 1993; **122**:292-300.
134. Salzman EW, Linden J, McManama G, Ware JA. Role of fibrinogen in activation of platelets by artificial surfaces. *Annals NY Acad Sci* 1987; **516**:184-195.
135. Tang L, Tsai C, Gerberich WW, Kruckeberg L, Kania DR. Biocompatibility of chemical-vapor-deposited diamond. *Biomaterials* 1995; **16**:483-488.
136. Yoder MN. Diamond properties and applications. In: Davis RF, ed. *Diamond Films and Coatings: Development, Properties, and Applications*. New Jersey: Noyes Publications, 1993:1-30.
137. Yoder MN. Diamond: what, when, and where. In: Purdes AJ, Angus JC, Davis RF, Meyerson BM, Spear KE, Yoder M, eds. *Proceedings of the Second International Symposium*

- on *Diamond Materials, Volume 91-8*. New Jersey: The Electrochemical Society, 1991:513-519.
138. Hoffman AS. *Modification of material surfaces to affect how they interact with blood*. *Annals NY Acad Sci* 1987; **516**:96-101.
139. Noishiki Y, Miyata T. A simple method to heparinize biological materials. *J Biomed Materials* 1986; **20**:337-346.
140. Beena MS, Chandy T, Sharma CP. Heparin immobilized chitosan -- poly ethylene glycol interpenetrating network: antithrombogenicity. *Art Cells Blood Subst Immobil Biotech* 1995; **23**:175-192.
141. MacGregor RD, Hunt CA. Artificial red cells: a link between the membrane skeleton and RES detectability? *Biomaterials Art Cells Art Organs* 1990; **18**:329-343.
142. Thomson JA, Law FC, Rushton N, Franks J. Biocompatibility of diamond-like carbon coating. *Biomaterials* 1991; **12**:37-40.
143. Lettington AH. Application of DLC films to optical windows and tools. In: Tzeng Y, Yoshikawa M, Murakawa M, Feldman A, eds. *Applications of Diamond Films and Related Materials, Materials Science Monographs No.73*. New York: Elsevier, 1991:703-710.
144. Chang TMS. Artificial cell including blood substitute and biomicroencapsulation: from ideas to applications. *Art Cells Blood Subst Immobil Biotech* 1994; **22**:vii-xiv.
145. Jones EA, Summerfield JA. Kupffer cells. In: Arias IM, Jakoby WB, Popper H, Schachter D, Shafritz DA, eds. *The Liver: Biology and Pathobiology*, Second Edition. New York: Raven Press, 1988:683-704.
146. Portnoy DA. Innate immunity to a facultative intracellular bacterial pathogen. *Curr Opin Immun* 1992; **4**:20-24.
147. Bloch EH, McCuskey RS. Biodynamics of phagocytosis: an analysis of the dynamics of phagocytosis in the liver by in vivo microscopy. In: Wisse E, Knook DL, eds. *Kupffer Cells and Other Liver Sinusoidal Cells*. New York: Elsevier/North-Holland Biomedical Press, 1977:21-32.
148. Athens JW. The reticuloendothelial (mononuclear phagocyte) system and the spleen. In: Lee GR, Bithell TC, Foerster J, Athens JW, Lukens JN, eds. *Wintrobe's Clinical Hematology*, Ninth Edition. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993:311-325.
149. Peacock EE Jr. *Wound Repair*, Third Edition. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1984.
150. Marelli TR. Use of a hemoglobin substitute in the anemic Jehovah's Witness patient. *Crit Care Nursing* 1994; **14**:31-38.
151. Robalino BD, Marwick T, LaFont A, Vaska K, Whitlow PL. Protection against ischemia during prolonged balloon inflation by distal coronary perfusion with use of an autoperfusion catheter or fluosol. *J Amer Coll Cardiol* 1992; **20**:1378-1384.
152. Spence RK. The status of bloodless surgery. *Transfusion Med Rev* 1991; **5**:274-286.
153. Spence RK, Cernaianu AC. Pharmacological agents as adjuncts to bloodless vascular surgery. *Seminars Vascul Surg* 1994; **7**:114-120.
154. Holman WL, McGiffin DC, Walter VAV, et al. Use of current generation perfluorocarbon emulsions in cardiac surgery. *Blood Subst Art Cells Immobil Biotech* 1994; **22**:979-990.
155. Hoffer A, Walker M. *Smart Nutrients*. Garden City Park NY: Avery Publishing Group, 1994.
156. Pearson D, Shaw S. *Life Extension: A Practical Scientific Approach*. New York: Warner Books, 1983.
157. Teicher BA. Use of perfluorochemical emulsions in cancer therapy. *Biomaterials Art Cells Immobil Biotech* 1992; **20**:875-882.

158. Rockwell S. Perfluorochemical emulsions and radiation therapy, *Blood Subst Art Cells Immobil Biotech* 1994; **22**:1097-1108.
159. Mason RP, Shukla H, Antich PP. Oxygent: a novel probe of tissue oxygen tension. *Biomaterials Art Cells Immobil Biotech* 1992; **20**:929-932.
160. Mortensen JD. Intravascular oxygenator: a new alternative method for augmenting blood gas transfer in patients with acute respiratory failure. *Art Organs* 1992; **16**:75-82.
161. Eichner ER. Blood doping: results and consequences from the laboratory and the field. *Phys. Sports Med* 1987; **15**:121-129.
162. Eichner ER. Better dead than second. *J Lab Clin Med* 1992; **120**:359-360.
163. Costill DL. Endurance performance and aging. *Sports Med Digest* 1990; **12**:7-10.
164. Brummelkamp WH. Reflections on hyperbaric oxygen therapy at 2 atmospheres absolute for *Clostridium welchii* infections. In: Ledingham I, ed. *Hyperbaric Oxygenation*. London: Churchill Livingstone, 1965.
165. Thom SR. Hyperbaric oxygen therapy. *J Int Care Med* 1989; **4**:58-63.
166. Rentko VT. Red blood cell substitutes. *Prob Veterinary Med* 1992; **4**:647-651.
167. Dodds WJ. Blood substitutes. *Adv Veterinary Sci Comp Med* 1991; **36**:257-290.
168. Fiedler FA, Reynolds GH. Legal problems of nanotechnology: an overview. *S Calif Interdisc Law J* 1994; **3**:593-629.
169. Kessler DA. FDA's revitalization of medical device review and regulation. *Biomed Instrum Technol* 1994; **28**:220-226.
170. Fratantoni JC. Points to consider in the safety evaluation of hemoglobin-based oxygen carriers. *Transfusion* 1991; **31**:369-371.
171. Electromagnetic interference may cause problems with some medical devices. *FDA Med Bull* (Sep 1994) **24**:5-6.
172. Nose Y. No government overregulation on the development of new medical devices. *Art Organs* 1993; **17**:673-674.
173. Loob WH. The Safe Medical Devices Act of 1990: are hospitals ready to deal with the FDA? *J Clin Eng* 1991; **16**:35-48.

## **Version française**

Traduction en avril 2 000

Traducteur : LCL Patrick Macé ( pjm.mace@afnet.net ),

Correcteur : Marc Macé ( famillemace@wanadoo.com ).

Quelques termes médicaux ou techniques américains, dont la traduction est douteuse, sont indiqués en note. Le traducteur serait heureux de toute aide lui permettant de lever ces doutes.

**La version française est soumise aux mêmes restrictions de droits d'exploitation que la version originale.**