

RAZIONALE APPLICATIVO DELL'OTI NELLE INFEZIONI DEI TESSUTI MOLLI DI INTERESSE ORTOPEDICO-TRAUMATOLOGICO

Rational use of OHT in soft tissues infection in traumatology

ARCHIVIO RUOCCO

C. LONGONI, W. CEPPARULO*

Policlinico San Marco di Zingonia - Istituto Iperbarico di Zingonia

** Ospedali Riuniti di Bergamo - I° Div. Ortopedia Traumatologia - (Primario: Prof. M. Quattrini)*

MECCANISMI DI DIFESA ANTIBATTERICA

La difesa contro le aggressioni batteriche è costituita da differenti meccanismi quali: 1) sistemi non immunologici; 2) fagocitosi; 3) sistemi umorali; 4) immunità cellulo-mediata (13).

Tra i mezzi di difesa aspecifici sono da considerarsi l'integrità della cute e delle mucose, il pH acido, alcuni acidi grassi dotati di potere antibatterico presenti sulla cute, la presenza di microrganismi commensali, l'eutrofismo tissutale (normoperfusione e normossia) e la presenza di sostanze antibatteriche quali il lisozima ed il complemento.

Questa prima barriera viene completamente annullata quando, a seguito di gravi lesioni traumatiche, si altera l'integrità dei suoi sistemi e si ha contaminazione batterica. Si ha una variazione microcircolatoria con vasodilatazione da sostanze iperpermeabilizzanti (istamina, serotonina, chinine) con conseguente stravasamento di proteine ematiche.

A questo momento si attiva un secondo sistema di difesa che è la fagocitosi nella quale intervengono prioritariamente i leucociti polimorfonucleati neutrofili (PMN), gli eosinofili ed i monociti.

Quest'ultimi, dopo breve transito circolatorio, originano i macrofagi tissutali (sistema dei fagociti mononucleati).

Si riconoscono nella fagocitosi differenti stadi: chemiotassi, opsonizzazione, inglobamento ed ingestione, uccisione e digestione.

1) La chemiotassi è la capacità dei PMN e monociti circolanti di avvertire uno stimolo chimico (fattore chemiotattico: C5a, leucotriene TB4...) proveniente dalla sede di aggressione, di attraversare le pareti vascolari e di localizzarsi con movimenti attivi nei tessuti ove sono presenti microrganismi.

2) L'opsonizzazione è un meccanismo che tende a modificare l'idrofobicità e ridurre la carica negativa superficiale dei microrganismi che risulta antagonista verso i fagociti anch'essi con carica negativa. I fattori che intervengono sono gli anticorpi specifici ed il complemento.

3) Il microrganismo opsonizzato viene inglobato tramite l'azione degli pseudopodi e muovendosi verso l'interno si fonde con i granuli che contengono sostanze battericide.

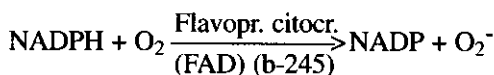
L'adesione e l'ingestione del microrganismo modifica la membrana del fagocita con attivazione metabolica

della cellula che provoca un considerevole aumento del consumo di ossigeno, del catabolismo glicidico, dell'ossidazione del NADPH, della glicolisi.

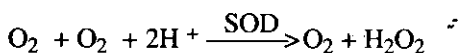
4) L'uccisione e la digestione del microrganismo avviene ad opera di metaboliti dell'O₂ (radicali liberi: RLO), altamente reattivi e tossici per la cellula fagocitata, e di altri sistemi battericidi. Si distinguono sistemi antimicrobici ossigeno-indipendenti costituiti da proteine cationiche, lattoferrine, lisozima, idrolasi acide e neutre, nucleostoni e ossigenodipendenti mieloperossidasi mediati (mieloperossidasi, H₂O₂, alogenuri) e mieloperossidasi indipendenti (H₂O₂, O₂⁻, O₂^{*}, OH⁻).

Il primo evento metabolico è il rapido ed imponente aumento del consumo di ossigeno ("Respiratory burst").

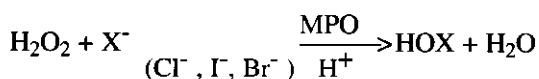
L'ossigeno è utilizzato da una flavoproteina di membrana, un enzima detto NADPHossidasi, che riduce l'O₂ ad anione superossido (O₂⁻) utilizzando il NADPH come donatore di elettroni. Il NADPH è prodotto da NADP utilizzando shunt degli esosomonofosfati (glicolisi aerobia), anch'esso stimolato durante la fagocitosi.



Una successiva reazione di dismutazione converte la massima parte di O₂⁻ in perossido di idrogeno (H₂O₂) ed è accelerata in presenza di superossido dismutasi (SOD).



La mieloperossidasi (MPO), enzima prodotto dai granuli azurofili dei PMN, agisce con il suo substrato H₂O₂, con formazione di alogenuri ossidati ad alto potere tossico.



L'anione superossido formato nella prima reazione può anche reagire con l'acido ipocloroso (HOCl) e formare il radicale idrossile, un ossidante estremamente forte.

In alcune reazioni si può inoltre formare l'ossigeno singoletto (O₂^{*}) un ossidante estremamente tossico per qualunque sistema biologico.

AEROBIOSI E ANAEROBIOSI

A seconda delle necessità o della possibilità di crescita in aria e di utilizzare l'ossigeno o sostanze inorganiche come accettori di idrogeno, i batteri si distinguono in aerobi ed anaerobi.

Sono aerobi obbligati quei batteri che possono crescere solo in presenza di aria a normocontrazione di O_2 , mentre sono aerobi facoltativi quei batteri capaci di metabolismo aerobio o fermentativo anaerobio a seconda delle condizioni ambientali.

Sono invece anaerobi obbligati quei batteri che muoiono se esposti all'aria con tempi e concentrazioni di O_2 tollerabili estremamente variabili. Alcuni infatti tollerano concentrazioni di O_2 allo 0,5% solo per brevissime esposizioni mentre altri crescono in miscele di O_2 allo 2-8% per alcune ore.

I microaerofili sono batteri che crescono in assenza di ossigeno o in aria addizionata del 10-17% di CO_2 .

La sensibilità degli anaerobi all' O_2 era stata interpretata come incapacità di tali batteri a produrre la catalasi in grado di scindere i perossidi che si producono in presenza di ossigeno, ma la dimostrazione che alcuni anaerobi producono catalasi e che l'aggiunta di catalasi ai terreni di coltura non consente la crescita di anaerobi obbligati in presenza di aria ha fatto ricercare ulteriori motivazioni.

È stato poi evidenziato che batteri anaerobi, anche se produttori di catalasi, non producono di norma l'enzima superossido-dismutasi (SOD) che protegge invece gli aerobi dall'azione del superossido libero (O_2^-) prodotto intermedio della riduzione monovalente dell' O_2 molecolare e presente in tutte le miscele ossigenate.

Anche quest'ultima ipotesi non ha più valore universale in quanto alcuni batteri producendo SOD, possono crescere solo in anaerobiosi stretta.

Un altro fattore importante per la crescita degli anaerobi è il potenziale di ossidoriduzione (Eh) nei tessuti o nei terreni di coltura. Per alcuni batteri valori molto bassi di Eh e incompatibili con la presenza di O_2 sembrano essere l'unica condizione di crescita.

Infatti vasculopatie, traumatismi, tumori, infezioni da aerobi sono fattori che predispongono ad infezioni da anaerobi in quanto una carenza di ossigeno da ipoperfusione o per lo sviluppo di batteri che consumano O_2 riduce il potenziale ossido riduttivo che normalmente è di circa + 120 millivolts.

Altri autori hanno motivato la sopravvivenza di alcuni anaerobi esposti all'aria alla presenza di Mn^{+} o di NADH ossidasi (1).

OSSIGENAZIONE TISSUTALE ED INFEZIONI

Da quanto detto, si può notare come la pressione parziale di O_2 tissutale abbia importanza sia nella difesa aspecifica contro qualsiasi microorganismo (fagocitosi) sia nella crescita batterica anaerobia.

L'alterata perfusione post-traumatica riduce la rea-

zione infiammatoria per diminuito apporto di proteine plasmatiche, di PMN ed ossigeno proprio in un momento di maggior richiesta ossidativa (respiratory burst).

Una valida difesa fagocitaria necessita di pressioni parziali di O_2 tissutali superiori a 30-40 mmHg.

Hohn (12, 13) ha mostrato a livello tissutale ed in vitro come l'attività battericida verso lo stafilococco aureo esplicita in I ora sia funzione della pO_2 del mezzo in cui avveniva la fagocitosi. Si è notata una netta riduzione dell'attività al di sotto dei 30 mmHg ed a valori prossimi a 0 mmHg si è ridotta al 40-50%.

Tale riduzione di attività in condizioni marcatamente ipossiche è pari a quella riscontrata in soggetti con deficit enzimatico di NADPH ossidasi, responsabile della riduzione della produzione di RLO nei PMN e pertanto anche l'ipossia determina riduzione dell'attività fagocitaria legata all'azione dei RLO.

Analoga rilevazione è stata eseguita anche su altre specie batteriche (15, 16).

Lo studio di un modello sperimentale eseguito su cani (2) ha mostrato che l'inoculazione di Stafilococco aureo su lembi scarsamente vascolarizzati e ipossici ($pO_2 < 20$ mmHg) produceva una rapida necrosi infetta mentre nei lembi normossici si rilevavano lesioni limitate; si evidenziava così una correlazione infezione-ipossia a valori critici di pO_2 di circa 30-40 mmHg.

Ulteriori dimostrazioni sono state ottenute da Hunt Knighton (10, 12) che hanno posto animali infettati con varie metodiche in respirazione con miscele a differenti concentrazioni di Ossigeno ed osservando che le difese fagocitarie si esplicano meglio in condizioni di moderata iperossia anche se tali condizioni vengono realizzate più tardivamente rispetto alla formazione della lesione.

I batteri anaerobi sono estremamente sensibili all'ossigeno ed ai suoi derivati anche se in modo variabile a seconda della specie, che esercitano un'azione battericida o batteriostatica.

I Clostridi sono capaci di sopravvivere in un ambiente ostile (calore, radiazioni, antisettici, ossigeno) abolendo l'attività metabolica e rivestendosi di membrane protettive, trasformandosi in spore. La germinazione può avvenire poi a distanza di tempo quando vengono ripristinate favorevoli condizioni di potenziale ossidoriduttivo in presenza di alterazioni favorevoli l'ipossia quali le ampie lesioni traumatiche con presenza di ematomi, corpi estranei, alterazioni vascolari (ischemia o sindrome compartimentale), infezioni miste con presenza di batteri aerobi che consumano la minima quantità di ossigeno ancora presente nei tessuti.

Alcuni batteri, quali il Clostridium perfringens producono idrogeno che riduce ulteriormente l'Eh.

L'ossigenazione tissutale può influenzare anche la produzione di alcune tossine da parte dei Clostridi ed inattivarne altre. Infatti la produzione di tossine si arresta a pO_2 mmHg (4) e l'iperossia inattiva alcune tossine quali la tetatossina.

Concludendo, secondo Rabkin (18), i batteri anaerobi vivono meglio in ambiente ipossico a causa del loro

metabolismo, ed i batteri aerobi "sopravvivono" meglio in ipossia a causa della depressione della funzione fagocitarie.

È per questo che la maggior parte di infezioni traumatiche o chirurgiche sono di tipo "anaerobio", in quanto l'ambiente è ipossico.

OSSIGENOTERAPIA IPERBARICA

La respirazione in O₂ al 100% a pressione superiore a quella ambientale incrementa la quota di O₂ fisicamente disciolta nel sangue fino a valori di circa 6 ml/100 ml durante esposizioni a 2,8 ATA e raggiungendo una PaO₂ di circa 1800-2000 mmHg. Secondo leggi fisiche la quota di O₂ fisicamente disciolta diffonde prontamente in tutti i liquidi a contatto e pertanto un incremento ematico porta ad un conseguente incremento di O₂ tissutale con possibilità di riscontrare in tessuti sani e normoperfusi, mediante misurazione dell'ossimetria transcutanea (P_tcO₂), valori anche superiori a 1400 mmHg.

Nelle lesioni traumatiche ampiamente esposte o nelle lesioni chiuse con sindrome compartimentale frequentemente ci troviamo di fronte a valori gasanalitici tissutali estremamente patologici per edema tissutale o per ischemia primitiva (lesioni vascolari) o secondaria (compressione).

Nel caso di ischemia da lesione vascolare abbiamo riscontrato valori di P_tcO₂ pressoché nulli e valori di P_tcCO₂ inferiori alla norma, mentre nelle sindromi compartimentali abbiamo riscontrato valori di P_tcO₂ ridotti e P_tcCO₂ elevati nella situazione di edema e valori di P_tcO₂ pressoché nulli e P_tcCO₂ normali nell'iniziale ischemia secondaria alla compressione.

Un aiuto diagnostico può essere fornito anche dalla flussimetria laser doppler (FLD) (14).

Nei casi ad evoluzione favorevole è stato dimostrato un incremento della P_tcO₂ tissutale durante trattamenti OTI, con tendenza ad ulteriore aumento durante i trattamenti successivi. I valori raggiunti sono stati inferiori a quelli prevedibili per i tessuti sani; taluni Autori (17) (20) ritengono sufficiente il raggiungimento durante il trattamento di P_tcO₂ variabili (425 ± 292 mmHg; 75,5 ± 35,5 mmHg).

Risulta evidente che nella prevenzione delle infezioni nei gravi traumi degli arti, nelle sepsi da anaerobi e soprattutto nelle gangrene gassose è importante il valore della P_tcO₂ durante OTI, ma lo è maggiormente il raggiungimento ed il mantenimento di una P_tcO₂ elevata per il maggior tempo possibile. Pertanto i protocolli terapeutici OTI prevedono in tali evenienze plurimi trattamenti giornalieri: 2-4/die in prima giornata e successivi 2 trattamenti/die.

Tali trattamenti anche se molto importanti non sono da soli capaci di portare a guarigione gravi sepsi.

Risultati ottimali si sono ottenuti associando ad essi anche una antibiotico-terapia mirata e provvedimenti chirurgici (6).

Anche a nostro parere i provvedimenti chirurgici di

tipo conservativo sono estremamente importanti. Taluni, quali le fasciotomie, possono essere prioritari in quanto risolvono i fenomeni di compressione da edema o da gas che possono ulteriormente, ischemizzando i tessuti, peggiorare l'ipossia, rallentare la diffusione degli antibiotici per via ematica e limitare l'incremento di O₂ tissutale distale durante OTI.

La rimozione di tessuto necrotico accompagnata da lavaggi antisettici è una regola da non trascurare.

CONCLUSIONI

L'utilizzo dell'ossigenoterapia iperbarica nelle lesioni post-traumatiche deve essere il più tempestivo possibile appena stabilizzate le lesioni e verificata l'integrità vascolare, e deve essere attivato anche con finalità di prevenzione di sepsi.

Infatti poiché le mionecrosi o le celluliti anaerobiche possono portare a gravi irreversibili lesioni degli arti, non è corretto attendere l'insorgenza dei segni clinici di infezione per attuare il trattamento.

Il razionale dell'OTI in tali patologie è in pratica l'incremento dell'O₂ tissutale, la riattivazione dei processi riparativi (neovascolarizzazione, collagenosintesi), la demarcazione dei tessuti necrotici.

La correzione dell'ipossia tissutale determina (11):

- azione battericida o batteriostatica su germi anaerobi;
- attivazione della fagocitosi;
- disponibilità di O₂ per i processi ossidativi fagocitari (RLO);
- azione singergica con alcuni antibiotici;
- miglioramento progressivo microcircolatorio;
- inibizione nella produzione o attività di alcune tossine.

SUMMARY

Rational use of OHB in soft tissues infection in traumatology

Antibacterial defence mechanisms, especially phagocytosis and germ growth inhibition, particularly of anaerobes, is strictly correlated with normal tissue oxygenation. Trauma changes perfusion and therefore oxygenation, facilitating severe sepsis (myonecrosis, gas gangrene).

Hyperbaric oxygen therapy (HBO) improves tissue oxygenation and perfusion, even in cases of circulatory obstruction, providing: optimization of bactericidal or bacteriostatic action, activation of phagocytosis, inhibition of production of bacterial toxins and improvement of the tissue trophism.

RIASSUNTO

I meccanismi di difesa antibatterica, soprattutto la fagocitosi e l'inibizione di crescita dei germi soprattutto

anaerobi è strettamente correlata con situazioni di normossia tissutale. I traumi alterano la perfusione e conseguentemente l'ossigenazione con facilitazione di gravi sepsi (mionecrosi, gangrene gassose).

L'ossigenoterapia iperbarica migliora l'ossigenazio-

ne tissutale e la perfusione anche in caso di ostacolo circolatorio con: ottimizzazione dell'azione battericida o batteriostatica, attivazione della fagocitosi, inibizione della produzione di tossine batteriche, miglioramento del trofismo tissutale.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Amano A., Tamagawa H., Takagaki M., Murakami Y., Shizukuishi S., Tsunemitsu A.: *Relationship between enzyme activities involved in oxygen metabolism and oxygen tolerance in black-pigmented. Bacteroides*. J. Dent. Res., 67, 9, 1196-1199, 1988.
- 2) Chang N., Mathes S. J.: *Comparison of the effect of bacterial inoculation in musculocutaneous and random pattern flaps*. Plast. Reconstr. Surg., 70, 1 - 10, 1982.
- 3) Chavatte P., Romond C.: *Effets sur les microorganismes bactériens. Da Oxygénothérapie hyperbare et réanimation*, 15-22, Ed. Masson, 1990.
- 4) Fredette V.: *Effect of hyperbaric oxygen on anaerobic bacteria and toxins*. Ann. N. Y. Acad. Sci., 117, 700-705, 1965.
- 5) Davis J.C., Hunt T.K.: *Problem wounds*. Ed. Elsevier, 1988.
- 6) Demello F.J., Haglin J.J., Hitchcock C.R.: *Comparative study of experimental Clostridium perfringens infection in dogs treated with antibiotics, surgery and hyperbaric oxygen*. Surgery, 73, 936-941, 1973.
- 7) Hohn D.C., Mac Kay R.K., Halliday B. et coll.: *The effect of oxygen tension on the microbicidal function of leukocytes in wounds and in-vitro*. Surg. Forum, 27, 18-20, 1976.
- 8) Hohn D.C., Ponce B., Burton R. W. et coll.: *Antimicrobial systems of the surgical wound. I. A comparison of oxidative metabolism and microbicidal capacity of phagocytes from wounds and from peripheral blood*. Am J. Surg., 133, 597-600, 1977.
- 9) Hoshino E., Frolander F., Carlsson J.: *Oxygen and the metabolism of Peptostreptococcus anaerobius VPI 4330-1*. J. Gen. Microbiol., 107, 235-248, 1978.
- 10) Hunt T.K., Linsey M., Grislis C. et coll.: *The effect of differing ambient oxygen tensions on wound infection*. Ann. Surg., 181, 35-39, 1975.
- 11) Jain K.K.: *Textbook of Hyperbaric Medicine*. Ed. Hogrefe & Huber, 1990.
- 12) Knighton D.R., Halliday B., Hunt T.K.: *Oxygen as an antibiotic: the effect of inspired oxygen on infection*. Arch. Surg., 119, 199-204, 1984.
- 13) La Placa M.: *Principi di microbiologia medica*. Ed. Esculapio, 1988.
- 14) Longoni C.: *La risposta microcircolatoria cutanea al trattamento O.T.I. nella traumatologia degli arti: possibilità di indagine*. Atti Congresso: «L'anestesia in ortopedia» IV Incontro Nazionale, Bologna, 14-15 Maggio 1992.
- 15) McRipley R. J., Sbarra A. J.: *Role of the phagocyte in host-parasite interactions. XI. Relationship between stimulated oxidative metabolism and hydrogen peroxide formation and intracellular killing*. J. Bacteriol 94, 1417-1424, 1967.
- 16) Mandell G.: *Bactericidal activity of aerobic and anaerobic polymorphonuclear neutrophils*. Infect Immun. 9, 337-341, 1974.
- 17) Mothieu D., Wattel F., Bouachour G., Billard V., Defoin J.F.: *Post-traumatic limb ischemia: prediction of final outcome by transcutaneous oxygen measurements in hyperbaric oxygen*. J. of Trauma, Vol. 30, n. 3, 307-314, 1990.
- 18) Rabkin J.M., Hunt T.K.: *Infection ad oxygen*. Chapter 1, 1-16. Da Problem wounds. Ed. Elsevier, 1988.
- 19) Wattel F., Mathieu D.: *Oxygénothérapie hyperbare et réanimation*. Ed. Masson, 1990.
- 20) Wattel F., Pellerin P., Mafhieu D., Patenotre P., Coget J.M., Schoofs M., Leps P.: *L'oxygénothérapie hyperbare dans le traitement des plaies, en chirurgie plastique et reconstructive*. Ann. Chir. Plast. Esthét. Vol. 35, n. 2, 143-146, 1990.