

## La modulazione della risposta infiammatoria nella sepsi. Quale futuro per l'applicazione clinica dell'ossigenoterapia iperbarica?

Giovanni De Martino, Antonio Pisano

Dipartimento Assistenziale di Anestesia, Rianimazione, Terapia Intensiva, Terapia Iperbarica e Terapia Antalgica. Università "Federico II" - Napoli

Da almeno vent'anni è stato chiarito che l'Ossigenoterapia Iperbarica (OTI), ancorché efficace strumento per migliorare l'ossigenazione tissutale o, meglio, per compensare un deficit nella capacità di trasporto dell'O<sub>2</sub> (1), rappresenta un intenso potenziamento delle difese antimicrobiche dell'organismo (1, 2) mediante un'aumentata formazione di specie reattive dell'ossigeno correlata alle tensioni di O<sub>2</sub> superatmosferiche (3). Più recentemente è stato evidenziato come l'ossigeno iperbarico sia in grado di agire come un vero e proprio trasduttore di segnale, modulando il rilascio di ossido nitrico e l'espressione di citochine, fattori di crescita, molecole di adesione intercellulare e sistemi enzimatici antiossidanti (4-10).

In particolare, è stato dimostrato che l'OTI riduce l'adesione e il "rolling" dei polimorfonucleati mediante l'inibizione delle  $\beta_2$ -integrine dei neutrofili (11-13) e inibisce l'interazione tra leucociti ed endotelio grazie ad una down-regulation delle molecole di adesione cellulare quale la molecola di adesione intercellulare 1 (ICAM-1) (14). Il miglioramento della perfusione microvascolare che da ciò scaturisce è molto probabilmente da mettere in relazione anche con l'inibizione della sintesi di ossido nitrico (5, 9, 15). Infine, nonostante l'aumentata formazione di radicali liberi dell'ossigeno in misura direttamente proporzionale alla pressione parziale di O<sub>2</sub>, l'OTI sembrerebbe ridurre lo stress ossidativo (7) grazie ad un aumento dell'attività superossido dismutasica sulla superficie endoteliale ed ai meccanismi adattativi indotti dai danni al DNA prodotti dall'ossigeno iperbarico (16).

La sepsi è una patologia infiammatoria responsabile di oltre 100.000 decessi ogni anno negli USA, con un incremento di incidenza dell'1,5% annuo (17) ed una mortalità del 28-50% nonostante la terapia con antibiotici, fluidi, vasopressori ed ossigeno.

La complessa fisiopatologia della sepsi non è stata ancora completamente chiarita (18). La risposta infiammatoria inizia con la colonizzazione e proliferazione di microrganismi in un sito tissutale, con rilascio di enzimi esogeni e tossine, che attivano e promuovono il rilascio da parte dei macrofagi di mediatori endogeni (citochine) che, travalicando la normale risposta infiammatoria, danno vita ad un processo caotico (caratterizzato cioè da una risposta non proporzionale allo stimolo) in cui vari nodi (sistemi molecolari, cellulari e d'organo) e diversi sistemi (infiammazione, coagulazione, fibrinolisi) si influenzano reciprocamente (19). Questi mediatori producono effetti biologici amplificati, causando risposte infiammatorie, alterazioni nel tono vascolare, anomalie della coagulazione e depressione del miocardio. Le citochine principalmente implicate sono rappresentate dal fattore di necrosi tumorale  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) e dalle interleuchine 1 e 6 (IL-1, IL-6). Sebbene tutte le cellule presentino recettori per il TNF $\alpha$ , il principale "organo" bersaglio nella risposta settica è l'endotelio.

Il contatto tra recettore endoteliale e TNF $\alpha$  induce, attraverso l'attivazione del fattore nucleare-kB (NF-kB) intracellulare, la trascrizione di numerosi geni, il cui risultato finale è la produzione di citochine proinfiammatorie (IL-1 e IL-6) e l'espressione sulla superficie endoteliale del Fattore Tissutale (TF), capace di innescare la coagulazione, e di molecole di adesione (VCAM-1, ELAM-1, ICAM-1). A contatto con queste molecole, i leucociti rallentano il loro flusso e, una volta attivati dalle citochine proinfiammatorie, esprimono sulla loro superficie le integrine, che si fissano alle molecole di adesione endoteliali, con conseguente blocco e concentrazione di leucociti nella regione attivata

*Indirizzo per la richiesta di estratti:*  
 Prof. Giovanni De Martino  
 AOU "Federico II" - Edificio 8  
 Via Pansini, 5 - 80121 Napoli  
 Tel. 0817463546  
 gdemarti@unina.it

ed una eventuale migrazione nei tessuti. La migrazione e l'accumulo dei leucociti al sito di infiammazione, che giocano un ruolo critico nella genesi del danno d'organo, sembrano favorite nella risposta settica da una sovraregolazione (up-regulation) dell'espressione genica delle molecole di adesione nell'endotelio microvascolare (20).

La cellula endoteliale diventa quindi una "centrale" in grado di innescare il processo coagulativo (produzione di Fattore Tissutale), di amplificare la risposta infiammatoria (produzione di citochine) e di attivare e concentrare gli effettori cellulari della risposta innata (con attivazione di macrofagi e leucociti). Il risultato finale è rappresentato da riduzione della perfusione tissutale e stress ossidativo e nitrosativo, con danno e disfunzione d'organo. Nel corso degli ultimi anni sono stati condotti alcuni esperimenti in vitro ma soprattutto diversi studi su modelli animali che sembrano delineare un possibile ruolo dell'OTI nel trattamento della sepsi, evidenziando effetti benefici dell'OTI sul danno d'organo e sullo shock e iniziando a far luce su alcuni meccanismi biochimici che sarebbero alla base di tali effetti, con particolare riferimento alla capacità dell'ossigeno iperbarico di modulare la risposta infiammatoria. Il presente lavoro si ripropone, attraverso l'analisi della letteratura e alla luce di alcune considerazioni di carattere clinico e gestionale, di fare il punto sulle prospettive future di utilizzo dell'OTI come trattamento aggiuntivo della sepsi severa e dello shock settico.

Le proprietà antibatteriche dell'ossigeno sono note da tempo (21). In particolare, è ormai accertato che l'OTI esplica un'intensa azione antibatterica, di tipo diretto sugli anaerobi, privi di sistemi enzimatici di detossificazione dei radicali, e di tipo indiretto sugli aerobi, verso i quali la somministrazione di ossigeno iperbarico agisce sia promuovendo l'attività ciclica dei polimorfonucleati (PMN), che si realizza attraverso l'"oxidative burst" (22), sia sinergizzando l'azione di alcuni antibiotici. Quest'ultimo effetto si realizza attraverso diversi meccanismi: ad esempio, il potenziamento del trasporto degli aminoglicosidi e dei fluorochinoloni attraverso la parete batterica per mezzo di un carrier ossigeno-dipendente, oppure il prolungamento dell'effetto post-antibiotico (PAE) – cioè del tempo necessario per la ricrescita batterica dopo l'esposizione ad un agente antimicrobico – degli aminoglicosidi, forse legato all'induzione da parte dell'OTI di uno stress ossidativo al quale i batteri non sono in grado di adattarsi a causa dell'inibizione della sintesi proteica indotta dall'antibiotico, o ancora il potenziamento dell'azione dei sulfamidici legata all'ossidazione di enzimi e di prodotti intermedi della via dei folati.

Se il potenziale antibatterico dell'OTI, così come la capacità di migliorare la disponibilità di ossigeno tissutale, non vanno sottovalutati, le evidenze di Letteratura suggeriscono che le proprietà dell'ossigeno iperbarico di trasduttore di segnale e la conseguente capacità di interferire con i diversi mediatori del danno durante la sepsi – tra cui l'os-

sido nitrico, le citochine, le molecole di adesione, lo stato ossidativo – possono fornire un contributo altrettanto importante agli effetti terapeutici dell'OTI nella sepsi.

Già Lahat e coll. (4) avevano osservato come l'OTI fosse in grado di prevenire il marcato incremento della secrezione di TNF-**a** indotto dal lipopolisaccaride (LPS) in monociti/macrofagi derivati da sangue periferico, milza e polmoni di ratto, suggerendo un ruolo del TNF-**a** nel mediare gli effetti dell'OTI osservati su alcuni tessuti e sulla loro risposta immune.

Successivamente, in un modello animale di shock indotto da zymosan (un componente della parete cellulare di *Saccharomyces cerevisiae*), Luongo e coll. (5) suggeriscono che l'aumento della sopravvivenza nel gruppo trattato con OTI possa essere legato soprattutto all'inibizione della sintesi di ossido nitrico (NO) da parte del radicale superossido prodotto in conseguenza dell'iperossia iperbarica, con un conseguente effetto vasocostrittore periferico diretto ed una riduzione della permeabilità delle membrane biologiche. Dopo l'induzione di peritonite acuta, ipotensione severa e segni di malattia sistemica in ratti mediante iniezione di zymosan, l'esecuzione di dosaggi seriati dei metaboliti dell'ossido nitrico (NOx) e dei livelli di TNF-**a** a livello peritoneale e plasmatico ha evidenziato una riduzione dei livelli di NOx (legata forse alla produzione da parte dell'OTI di anione superossido, in grado di inibire la NO sintasi) e di TNF-**a** nei ratti trattati con OTI. Più recente è l'osservazione di Benson e coll. (23) che l'OTI riduce transitoriamente la produzione di IL-1**b** e TNF-**a** indotta da fitoemoagglutinina (PHA) in colture di monociti-macrofagi umani ma la aumenta dopo esposizione prolungata, ciò che suggerisce come la durata del trattamento possa influire sugli effetti terapeutici dell'OTI nella sepsi.

È stato anche osservato da Fildissis e coll. (24) che l'ossigeno iperbarico è in grado di aumentare la produzione di TNF-**a**, IL-6 e IL-8 e di ridurre la concentrazione della molecola di adesione intercellulare 1 solubile (sICAM-1) in campioni di sangue intero precedentemente stimolati con LPS. I differenti risultati ottenuti da questi autori rispetto ai lavori precedentemente riportati relativamente agli effetti dell'OTI sulla produzione delle citochine potrebbero derivare dall'aver utilizzato campioni di sangue intero anziché colture cellulari. Comunque, la riduzione dei livelli di sICAM-1, presumibilmente correlata agli aumentati livelli di IL-8, suggerisce che l'inibizione dell'adesione dei PMN all'endotelio mediante la modulazione dell'espressione di ICAM-1 potrebbe contribuire agli effetti benefici dell'OTI nella sepsi.

Un importante contributo alla comprensione del potenziale valore terapeutico dell'OTI nella sepsi è stato aggiunto ultimamente da Buras e coll. (8). Utilizzando un accreditato modello murino di sepsi polimicrobica indotta mediante legatura cecale e successiva puntura (CLP) (25), gli autori hanno dimostrato che 90 minuti di OTI a 2.5 atmosfere (atm), iniziata 12 h dopo la CLP e sommini-

strata due volte al giorno, hanno raddoppiato la sopravvivenza degli animali durante un'osservazione di 4 giorni. Al contrario, né lo stesso profilo di OTI praticato una volta al giorno né la respirazione di ossigeno puro ad 1 atm (iperossia normobarica) hanno mostrato alcun effetto sull'outcome. Sorprendentemente, l'aumento della pressione parziale di ossigeno a 3 atm è risultato associato ad un marcato incremento di mortalità, probabilmente legata ad un danno ossidativo, come suggerito da un recente lavoro di Öter e coll. (26) che ha evidenziato un accumulo massimale di sostanze reattive dell'acido tiobarbiturico – un accettato marker di accumulo di prodotti di perossidazione lipidica – nei polmoni e nel cervello di ratti esposti ad OTI quando la pressione veniva aumentata da 2.5 a 3 atm.

Sebbene queste osservazioni, come suggeriscono gli stessi autori, non possano essere ricondotte in maniera paradigmatica allo scenario clinico della sepsi umana, il lavoro di Buras e coll. (8) è di particolare importanza perché per la prima volta viene riportata una curva dose-risposta "ad U" degli effetti dell'OTI in condizioni di iperinflamazione e viene posta l'attenzione sul rapporto tra il grado di iperossia e il bilancio tra formazione di specie reattive dell'ossigeno e conseguente danno ossidativo da un lato, e risposta adattativa antiossidante, che probabilmente contribuisce agli effetti benefici nella sepsi, dall'altro (27).

Altro punto chiave evidenziato da Buras e coll. (8) riguarda il meccanismo alla base dell'aumentata sopravvivenza associata all'uso della "dose ottimale" di OTI. Utilizzando topi transgenici IL-10<sup>-/-</sup>, questi autori hanno dimostrato che l'effetto protettivo dell'OTI potrebbe essere in parte legato alla capacità dell'animale di produrre la citochina anti-infiammatoria IL-10, dal momento che i macrofagi peritoneali isolati dai topi CLP trattati con OTI mostravano un'aumentata espressione di IL-10 in risposta al LPS rispetto ai controlli CLP e che i topi IL-10<sup>-/-</sup> trattati con OTI a 2.5 atm ogni 12 h non risultavano protetti dalla mortalità associata alla CLP.

Negli ultimi anni sono stati osservati effetti benefici dell'OTI sul danno d'organo in modelli animali di sepsi. Oter e coll. (7) riportano gli effetti dell'ossigeno iperbarico, da solo o in combinazione con la terapia antibiotica (cefepime), sulla funzione e sulla morfologia epatiche in ratti resi settici mediante iniezione intraperitoneale di una sospensione di *Escherichia coli*. Il danno settico determinava un marcato incremento dei markers di stress ossidativo tissutale, un aumento dei livelli ematici di transaminasi ed intense infiltrazione neutrofila e degenerazione cellulare a livello epatico. Il trattamento antibiotico e l'OTI da soli risultavano in una riduzione dei livelli di transaminasi e dello stress ossidativo, ma i migliori risultati si ottenevano con la combinazione dei due trattamenti, che era l'unica in grado di restituire una biopsia epatica quasi normale. Inoltre, gli animali trattati con OTI presentavano un incremento di attività antiossidante (superossido dismutasi, catalasi) a livello epatico. Rispetto ai modelli

di shock indotto da LPS o da zymosan, che non riflettono tutti gli aspetti della sepsi batterica umana, il lavoro di Oter e coll. (7) ha il merito di aver utilizzato un modello animale di sepsi sistemica come risultato di un'infezione localizzata e di aver integrato il trattamento standard con antibiotici (28).

Utilizzando lo stesso modello di sepsi, Edremiltioglou e coll. (29) hanno osservato, nei ratti trattati con OTI, un ritorno ai valori normali della velocità di filtrazione glomerulare e del flusso urinario, una riduzione ai valori del gruppo di controllo dei livelli di malonildialdeide (MDA) a livello corticale e midollare renale, ed un aumento dell'attività catalasica e superossidodismutasi renali, che erano fortemente ridotte nei ratti settici. L'OTI sembrerebbe quindi mostrare un effetto benefico sulla disfunzione renale indotta dalla sepsi, presumibilmente legato ad una riduzione del danno ossidativo conseguente ad una aumentata attività antiossidante.

Più recentemente, Chang e coll. (9) hanno riportato, in un modello di danno renale, epatico e polmonare indotto da LPS in ratti, e quindi pur con i limiti di un modello "sterile" di infiammazione, una riduzione del danno polmonare nel gruppo trattato con OTI, apparentemente legata all'inibizione della sintesi di NO, in particolare mediante un'inibizione dell'espressione della NO sintasi inducibile (iNOS) che sembra coinvolgere la eme-ossigenasi 1 (HO-1).

Infine, in un modello sperimentale simile per il quale valgono quindi le stesse limitazioni, Sakoda e coll. (30) hanno osservato gli effetti dell'OTI sul danno della mucosa intestinale e sulla conseguente traslocazione batterica secondari alla somministrazione intraperitoneale di LPS. L'OTI praticata 3 ore dopo l'insulto ha ridotto il danno istologico nell'ileo terminale e l'incidenza e l'entità della traslocazione batterica ai linfonodi mesenterici a 24 h, con un aumento della sopravvivenza. Inoltre, l'OTI si è mostrata in grado di ridurre la iNOS di mucosa, l'attività mieloperossidasi e la concentrazione di nitrati/nitriti plasmatici. L'analisi immunohistochimica ha rivelato che l'OTI modifica specificamente l'attivazione dell'NF-κB, un mediatore importante nell'espressione delle citochine infiammatorie (v. sopra), entro 4-6 ore dall'iniezione di LPS. L'OTI potrebbe quindi ridurre la disfunzione della barriera intestinale nella sepsi modificando l'attivazione di NF-κB e riducendo così la conseguente sovrapproduzione di NO e l'attivazione della mieloperossidasi.

I meriti innegabili di questi studi consistono nel fornire un contributo talora importante alla comprensione della complessa fisiopatologia della sepsi umana e degli interessanti effetti biochimici dell'ossigenoterapia iperbarica che, come si va via via chiarendo grazie proprio a questi lavori, vanno certamente al di là dell'aumento dell'ossigenazione tissutale e dell'effetto antibatterico da radicali dell'ossigeno.

Tuttavia, la loro implicazione clinica è limitata da una serie di considerazioni:

- a) si tratta per lo più di studi, se non in vitro, su modelli animali di iperinflamazione endotossica o, nel migliore dei casi, di infezione generalizzata in modelli animali filogeneticamente lontani dall'uomo che certamente non riflettono la complessità della patologia umana;
- b) sono necessari studi futuri, che presumibilmente dovranno contemplare un'analisi dettagliata del delicato equilibrio tra proprietà antiossidanti, formazione di specie reattive dell'ossigeno e stress ossidativo, che siano in grado di chiarire il complesso bilancio tra effetti benefici ed effetti dannosi dell'OTI negli stati infiammatori;
- c) ulteriori studi sono inoltre indispensabili per elaborare i protocolli di OTI più efficaci e razionali nel paziente con sepsi, con particolare riferimento a durata, frequenza, pressioni di trattamento, e per identificare lo stadio di malattia nel quale l'OTI potrebbe dare i maggiori benefici, dal momento che non è chiaro se l'OTI possa migliorare l'outcome nel paziente in shock settico o ad esempio prevenire la progressione della sepsi verso il danno d'organo (sepsi grave) o lo shock settico;
- d) l'eventuale applicazione clinica su larga scala dell'OTI nel paziente settico è peraltro ostacolata dalla complessità tecnica e dai rischi del trattamento nel paziente con sepsi grave/shock settico.

In primo luogo, appare evidente la difficoltà logistica di inviare quotidianamente (se non più volte al giorno) presso un Centro di Terapia Iperbarica un paziente critico, spesso intubato o tracheostomizzato, sottoposto a ventilazione meccanica, a monitoraggio invasivo, a terapie infusionali multiple mediante pompe elettroniche se non a complesse terapie sostitutive come ad esempio l'emofiltrazione continua.

Secondo, nonostante la disponibilità in commercio di ventilatori meccanici e pompe infusionali adatti all'utilizzo in ambiente iperbarico, e di passaggi a scafo per i monitor-defibrillatori, durante l'esecuzione del trattamento iperbarico non è sempre possibile garantire lo standard assistenziale e terapeutico indispensabile per mantenere il delicato equilibrio del paziente settico. Ad esempio, se in alcuni casi può essere ininfluente dal punto di vista prognostico ridurre al minimo (es. frequenza cardiaca, pulsossimetria) il monitoraggio per il relativamente breve tempo del trasporto e del trattamento iperbarico e ammesso che si disponga del numero sufficiente di pompe-siringa "iperbariche" per continuare la corretta terapia di supporto farmacologico, nel paziente settico con grave danno polmonare (ARDS) il distacco da un ventilatore meccanico sofisticato a beneficio di un periodo di ventilazione manuale o, nel migliore dei casi, di ventilazione mediante ventilatore ad utilizzo iperbarico, certamente meno "sensibile" e versatile, potrebbe significare l'annullamento di successi terapeutici faticosamente ottenuti mediante oculate strategie ventilatorie e op-

portune manovre di reclutamento alveolare. Va inoltre considerato che nel paziente con ARDS la riduzione del rapporto  $pO_2/F_iO_2$  legata al danno polmonare associato alla sepsi potrebbe rendere difficile raggiungere le elevate  $pO_2$  necessarie per ottenere gli effetti terapeutici e vanificare i potenziali benefici dell'OTI.

Tutto ciò rende ancor più difficile, al di là dei tanti punti oscuri ancora esistenti sulla fisiopatologia della sepsi e sull'interazione tra questa e l'ossigeno iperbarico, ipotizzare l'inizio di una sperimentazione sulla patologia umana. Tuttavia, diverse sono pure le evidenze sperimentali che indicherebbero potenzialmente l'OTI, in un futuro forse ancora lontano, come una interessante strategia terapeutica per una patologia molto frequente nelle Terapie Intensive e con una mortalità ancora troppo alta.

## ■ Bibliografia

- 1) De Martino G, Abate C. Ossigenoterapia iperbarica. In: Zannini G. Chirurgia Generale. Torino: UTET, 1995.
- 2) Babior BM. Phagocytes and oxidative stress. *Am J Med* 2000;109:33-44.
- 3) McCord JM. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med* 2000;108:652-659.
- 4) Lahat N, Bitterman H, Yaniv N, et al. Exposure to hyperbaric oxygen induces tumor necrosis factor- $\alpha$  secretion from rat macrophages. *Clin Exp Immunol* 1995;102:655-659.
- 5) Luongo C, Imperatore F, Cuzzocrea S et al. Effects of hyperbaric oxygen exposure on a zymosan-induced shock model. *Critical Care Medicine* 1998;26(12):1972-1976.
- 6) Buras J. Basic mechanisms of hyperbaric oxygen in the treatment of ischemia-reperfusion injury. *Int Anesthesiol Clin* 2000;38:91-109.
- 7) Oter S, Edremittioğlu M, Korkmaz A et al. Effects of hyperbaric oxygen treatment on liver functions, oxidative status and histology in septic rats. *Intensive Care Medicine* 2005;31(9):1262-8.
- 8) Buras JA, Holt D, Orlov D et al. Hyperbaric oxygen protects from sepsis mortality via an interleukin-10-dependent mechanism. *Crit Care Med* 2006;34:2624-2629.
- 9) Chang KY, Tsai PS, Huang TY et al. HO-1 mediates the effects of HBO pretreatment against sepsis. *J Surg Res* 2006;136(1):143-53.
- 10) Imperatore F, Cuzzocrea S, Luongo C et al. Hyperbaric oxygen therapy prevents vascular derangements during zymosan-induced multiple-organ-failure syndrome. *Intensive Care Med* 2004;30:1175-1181.
- 11) Thom S. Functional inhibition of leukocyte  $\beta_2$  integrins by hyperbaric oxygen in carbon monoxide-mediated brain injury in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1993;123:248-256.

- 12) Chen Q, Banick PD, Thom SR. Functional inhibition of rat polymorphonuclear leukocyte  $\beta 2$  integrins by hyperbaric oxygen is associated with impaired cGMP synthesis. *J Pharmacol Exp Ther* 1996;276:929-933.
- 13) Thom SR, Mendiguren I, Hardy K et al. Inhibition of human neutrophil  $\beta 2$  integrin-dependent adherence by hyperbaric oxygen. *Am J Physiol* 1997;272:C770-C777.
- 14) Buras JA, Stahl GL, Svoboda KK et al. Hyperbaric oxygen downregulates ICAM-1 expression induced by hypoxia and hypoglycemia: the role of NOS. *Am J Physiol* 2000;278:C292-C302.
- 15) Huang TY, Tsai PS, Wang TY et al. Hyperbaric oxygen attenuation of lipopolysaccharide-induced acute lung injury involves heme oxygenase-1. *Acta Anaesthesiol Scand* 2005;49(9):1293-1301.
- 16) Kaelin CM, Im MJ, Myers RA et al. The effects of hyperbaric oxygen in free flaps in rats. *Arch Surg* 1990;125:607-609.
- 17) Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J et al. Epidemiology of severe sepsis in the United States: Analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001;29:1303-1310.
- 18) Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. *Chest*. 1997;112(1):235-43.
- 19) Gattinoni L, Vagginelli F, Taccone P et al. Sepsis: state of the art. *Minerva Anesthesiol* 2003;69:539-61.
- 20) Wu R, Xu Y, Song X et al. Gene expression of adhesion molecules in pulmonary and hepatic microvascular endothelial cells during sepsis. *Chin J Traumatol* 2002;5(3):146-50.
- 21) Knighton DR, Halliday B, Hunt TK. Oxygen as an antibiotic. A comparison of the effects of inspired oxygen concentration and antibiotic administration on in vivo bacterial clearance. *Arch Surg* 1986;121(2):191-5.
- 22) Clark LA, Moon RE. Hyperbaric oxygen in the treatment of life-threatening soft-tissue infections. *Respir Care Clin N Am* 1999;5(2):203-19.
- 23) Benson RM, Minter LM, Osborne BA et al. Hyperbaric oxygen inhibits stimulus-induced proinflammatory cytokine synthesis by human blood-derived monocyte-macrophages. *Clin Exp Immunol* 2003;134:57-62.
- 24) Fildissis G, Venetsanou K, Myrianthefts P. Whole blood pro-inflammatory cytokines and adhesion molecules post-lipopolysaccharides exposure in hyperbaric conditions. *Eur. Cytokine Netw* 2004;15:217-221.
- 25) Buras JA, Holzman B, Sitkovsky M. Animal models of sepsis: Setting the stage. *Nat Rev Drug Discov* 2005;4:854-865.
- 26) Öter S, Korkmaz A, Topal T et al. Correlation between hyperbaric oxygen exposure pressures and oxidative parameters in rat lung, brain, and erythrocytes. *Clin Biochem* 2005b;38:706-711.
- 27) Calzia E, Öter S, Muth CM et al. Evolving career of hyperbaric oxygen in sepsis: From augmentation of oxygen delivery to the modulation of the immune response. *Crit Care Med* 2006;34:2693-2695.
- 28) Muth CM, Radermacher P, Cuzzocrea S. Hyperbaric oxygen and sepsis: time to recognize. *Intensive Care Med* 2005;31:1150-1152.
- 29) Edremitlioglu M, Kilic D, Oter S et al. The effect of hyperbaric oxygen treatment on the renal functions in septic rats: relation to oxidative damage. *Surg Today* 2005;35(8):653-61.
- 30) Sakoda M, Ueno S, Kihara K et al. A potential role of hyperbaric oxygen exposure through intestinal nuclear factor-kB. *Crit Care Med* 2004;32:1722-1729.