

Impiego della pre-ossigenazione nella prevenzione delle patologie da decompressione

Landolfi A.*, Faralli F.***, Bosco G.***

* Corpo Sanitario Aeronautica Militare

** COMSUBIN, Marina Militare, Varignano, Le Grazie (SP)

*** CEMSI Istituto Salernitano di Medicina Iperbarica

■ Introduzione

L'esposizione ad elevate altitudini o ad ambiente spaziale sottopone l'organismo umano ad una riduzione della pressione ambiente col rischio di formazione di microbolle gassose circolanti (VGE) e conseguente patologia da decompressione (PDD). Dall'esperienza dei fisiologi della medicina ipobarica (NASA, extraveicular activity), tale rischio può essere minimizzato eliminando gran parte del gas inerte, l'azoto disciolto nei tessuti, tramite l'effettuazione di una pre-respirazione di ossigeno puro^{1,2,3}. Diversi sono i protocolli, ancora in fase di studio, per cercare di ridurre il rischio di patologie da decompressione. È oggi ormai accettato che le bolle gassose si formano a partire da micronuclei gassosi preesistenti, attraverso un loro aumento di numero e dimensione a seguito di decompressione⁴. La riduzione e/o l'eliminazione di questi micronuclei gassosi circolanti può apportare benefici nella prevenzione delle PDD. Partendo dall'ipotesi che il gas inerte presente nei micronuclei gassosi si può scambiare con quello disciolto nei tessuti tramite il meccanismo della diffusione secondo il principio di Fick, sostituendo nella miscela respiratoria l'azoto con ossigeno puro, questo, per diffusione, a sua volta si sostituirà al gas inerte presente nei micronuclei: questi ultimi, a seguito del consumo metabolico dell'ossigeno tenderanno a ridursi di volume o

addirittura a dissolversi (in relazione alla diversa tensione superficiale di ogni micronucleo gassoso)⁵. In questo studio sperimentale si vuole dimostrare che la respirazione di ossigeno puro effettuato in ambiente iperbarico è in grado di accelerare il processo prima descritto tramite la creazione di un cospicuo gradiente di pressione parziale. Al fine poi di poter valutare l'azione della pre-ossigenazione iperbarica nei confronti della inibizione della cascata emocoagulativa/infiammatoria nella patogenesi della patologia da decompressione si sono effettuati una serie di prelievi venosi per lo studio dell'aggregabilità piastrinica.

■ Metodi

Soggetti: La tabella I illustra le caratteristiche fisiche dei primi cinque soggetti reclutati per lo studio in oggetto. I soggetti volontari sono stati ben informati su ciò a cui sarebbero stati sottoposti ed hanno sottoscritto un consenso informato. Ciascuno dei partecipanti è stato, inoltre, sottoposto ad accurata visita medica di idoneità alla immersione. I soggetti hanno dichiarato di non aver assunto medicine, fatto immersioni o volato nelle ultime 48 ore prima dello studio.

Tabella I - Caratteristiche fisiche dei soggetti.

Soggetti #	Sesso	Età	h (cm)	Peso (kg)	BMI (kg * m ²)
1	F	32	164	50	18.5
2	M	30	167	60	21.5
3	M	32	182	95	28.6
4	M	45	170	84	29.06
5	M	29	165	68	24.9

Tabella II - Kisman-Masurel frequency parameter.

Code	Frequency (f) - bubbles per cardiac period
0	0
1	1-2
2	Several, 3-8
3	Rolling drumbeat > 9
4	Continuous sound

Tabella III - Kisman-Masurel percentage/duration parameter.

Code	Rest percentage (p) cardiac periods	Movement duration (d) cardiac periods
0	0	0
1	1-10	1-2
2	10-50	3-5
3	50-99	6-10
4	100	>10

Tabella IV - Kisman-Masurel amplitude parameter.

Code	Amplitude (A)
0	No bubbles discernible
1	Barely perceptible, $A(b) < A(c)$
2	Moderate amplitude, $A(b) < A(c)$
3	Loud, $A(b) \approx A(c)$
4	Maximal, $A(b) > A(c)$

Metodologia doppler: È di grande ausilio oggi l'utilizzo della tecnologia doppler per quantificare la presenza di bolle gassose circolanti (VGE) nel distretto venoso; a tal proposito sono stati eseguiti numerosi studi per la valutazione della sicurezza delle decompressioni successive ad immersione^{4,6}. Sono state proposte varie metodiche di valutazione della quantità di bolle rilevate con apparecchiature doppler: il metodo proposto nel 1978 da Kisman & Masurel, il KM mode, è stato preferito nel nostro studio per la sua flessibilità e maggior efficacia nell'applicabilità e riproducibilità da parte di diversi operatori/analizzatori⁷.

Il metodo KM divide il segnale di bolle in tre componenti:

1. bolle per ciclo cardiaco, frequenza (f);
2. percentuale di cicli cardiaci con presenza di bolle applicata al subacqueo in posizione di riposo, at rest (p), oppure durata della presenza di bolle (numero di cicli cardiaci consecutivi con elevato segnale di bolle dopo che il subacqueo ha eseguito dei movimenti), at movement (d);

3. ampiezza del segnale di bolle A(b), comparata all'ampiezza del segnale del flusso ematico cardiaco A(c).

Dalle tabelle sopradescritte si può vedere come ogni parametro è graduato su una scala che varia da 0 a 4, dalla cui unione si ricava alla fine un codice numerico a tre cifre (il KM code) che ci ricondurrà, secondo la tabella V, al grado di bolle (BG) osservato. Delle 64 combinazioni numeriche del KM code alcune sono rare o impossibili da realizzare.

Data collection: Per le rilevazioni è stato utilizzato l'apparecchio doppler modello *Sonomate 300G-2Mhz probe* posizionato dall'operatore a livello precordiale. Le misurazioni sono state effettuate a cominciare dal ventesimo minuto dal termine della decompressione in camera iperbarica e condotte poi ogni mezz'ora (20', 50', 80'). Su ogni soggetto la rilevazione doppler è stata condotta sia in condizioni di riposo (at rest) che dopo aver effettuato alcune flessioni sulle gambe (at movement); in entrambe le situazioni per un tempo di circa trenta-quaranta secondi⁸. Al

Tabella V - KM code con KM bubble grades (BG).

<i>fpA</i>	<i>BG</i>	<i>fpA</i>	<i>BG</i>	<i>fpA</i>	<i>BG</i>	<i>fpA</i>	<i>BG</i>
111	I-	211	I-	311	I	411	II-
112	I	212	I	312	II-	412	II
113	I	213	I+	313	II	413	II+
114	I	214	II-	314	II	414	III-
121	I+	221	II-	321	II	421	III-
122	II	222	II	322	II+	422	III
123	II	223	II+	323	III-	423	III
124	II	224	II+	324	III	424	III+
131	II	231	II	331	III-	431	III
132	II	232	III-	332	III	432	III+
133	III-	233	III	333	III	433	IV-
134	III-	234	III	334	III+	434	IV
141	II	241	III-	341	III	441	III+
142	III-	242	III	342	III+	442	IV
143	III	243	III	343	III+	443	IV
144	III	244	III+	344	IV-	444	IV

fine di mantenere elevata la qualità del segnale anche durante le successive valutazioni, le registrazioni sono state eseguite su supporto digitale (*Panasonic IC Recorder RR-US360*), dotato di uscita USB per la connessione a PC. Per lo studio e l'analisi più approfondita del segnale di bolle registrato si è poi utilizzato un programma su PC (*WavePurity Professional*) che consente la rappresentazione grafica del suono doppler e la sua manipolazione in termini di frequenza ed ampiezza⁹. Per la simulazione delle immersioni è stato utilizzato l'impianto iperbarico del CEMSI di Salerno. I prelievi venosi per lo studio piastrinico sono stati eseguiti su ogni soggetto sia prima dell'entrata in camera iperbarica sia immediatamente dopo l'uscita, per permettere un idoneo confronto dei risultati.

■ Protocollo sperimentale

Prima della esposizione iperbarica, i soggetti sono stati sottoposti a prelievo venoso e rilevamento doppler (al fine di ottenere per ognuno un campione pulito dal segnale di bolle). Successivamente i soggetti sono stati compressi ad una quota di 4 ATA per un tempo totale di fondo di 25' (nel rispetto delle tabelle di immersione U.S. Navy), seguiva la decompressione alla velocità di 10 m/min (Condizione A, tabella VI). Al termine dell'immersione i soggetti sono stati sottoposti a nuovo prelievo venoso e rilevazione doppler precordiale, ad intervalli di 20', 50' e 80'. A distanza di due giorni gli stessi soggetti, effettuavano la pre-ossigenazione iperbarica per poi essere sottoposti allo stesso profilo di immersione: compressione ad una profondità di 1.6 ATA per 45' con respirazione di ossigeno in maschera sin da quota normobarica (Condizione B, tabella VI); al ter-

mine di questo pre-trattamento, sempre in ossigeno, sono stati riportati a pressione ambiente per poi essere istantaneamente ricompresi in aria seguendo lo stesso profilo di immersione della Condizione A prima descritta. Al termine di suddetta esposizione i soggetti sono stati nuovamente sottoposti a prelievo venoso e valutazione doppler (con la medesima tempistica) per lo studio di confronto.

■ Risultati

Nella tabella VII si mettono a confronto i risultati delle rilevazioni dei segnali doppler. Dei soggetti che hanno eseguito le condizioni sperimentali alcuni presentano *bubble grade II* dopo immersione ad aria, nessuno dopo pre-trattamento con ossigeno iperbarico.

■ Discussione

Scopo di questo studio era verificare l'ipotesi che l'effettuazione di una pre-ossigenazione con ossigeno iperbarico prima di una immersione fosse in grado di ridurre e/o eliminare i micronuclei gassosi pre-esistenti nell'organismo umano e quindi di apportare un certo grado di protezione nei confronti delle Patologie da Decompressione. Dall'analisi positiva dei primi soggetti sottoposti alla sperimentazione, si mettono in evidenza incoraggianti risultati per continuare non solo ad approfondire questo indirizzo di studio su un numero maggiore di subacquei, ma anche di verificare se una pre-ossigenazione effettuata in normobarismo è lo stesso in grado di apportare benefici nei confronti della PDD.

Tabella VI - Condizioni sperimentali dello studio.

Condizione A	Condizione B
*Compressione a 4 ATA	*Compressione a 1.6 ATA in O ₂ 100% per 45'
Tempo di fondo: 25'	Decompressione in O ₂ e stesso profilo Condizione A
***Decompressione	***Decompressione

*Compressione: velocità 20 m/min.

***Decompressione: velocità 10 m/min.

Tabella VII - KM code delle registrazioni doppler.

Soggetti	a	b	c	a	b	c	a	b	c
1	20'	I+	I-	50'	I	I	80'	I-	I-
2	20'	II-	I+	50'	I	I	80'	I-	I-
3	20'	I	I	50'	II-	I+	80'	I-	I-
4	20'	II	I+	50'	I+	I	80'	I-	I-
5	20'	II	I+	50'	I-	I-	80'	I-	I-

Colonna a: tempo (minuti) delle registrazioni doppler.

Colonna b: KM code registrati dopo profilo di immersione ad aria di controllo (condizione A).

Colonna c: KM code registrati dopo pre-ossigenazione (condizione B).

N.B.: non ci sono state differenze nella valutazione doppler fra *at rest* e *at moviment*.

Tabella VIII - Valori di attività piastrinica misurati.

Soggetti	a	b	c
1	2,6%	11,7%	4,0%
2	2,0%	9,5%	6,1%
3	3,0%	12,3%	7,0%
4	3,1%	13,4%	5,0%
5	2,1%	9,8%	4,8%

Colonna a: attività piastrinica misurata prima dell'immersione.

Colonna b: attività piastrinica misurata dopo immersione ad aria (condizione A).

Colonna c: attività piastrinica misurata dopo pre-ossigenazione (condizione B).

Ipotesi in discussione sulla efficacia della pre-ossigenazione: considerazioni teoriche sulla formazione/eliminazione delle bolle

I più recenti modelli di decompressione basati sul controllo delle bolle ammettono a livello ematico, anche a normale pressione atmosferica, la presenza di micronuclei gassosi circolanti, i quali a seguito di immersione acquisirebbero la possibilità di accrescersi. Sulla formazione di questi micronuclei sono stati proposti ed accettati diversi meccanismi. Recenti studi di ingegneria dei fluidi hanno poi messo in evidenza i possibili meccanismi di stabilizzazione dei micronuclei gassosi: infatti a causa del loro piccolissimo raggio, in accordo con la legge di La-

Place, non potrebbero sussistere tendendo a collassare su se stessi e quindi a dissolversi. Pur non essendo oggi ancora perfettamente chiarita la natura dei meccanismi che permettono la stabilizzazione dei micronuclei gassosi, oltre al ruolo svolto dalle molecole di surfattante¹⁰ nei confronti della tensione superficiale all'interfaccia gas-liquido, sembra corretta anche l'ipotesi dei cosiddetti "nuclei idrofobici interstiziali" (*crevice model*). Tale modello, elaborato da P. Tikuisis¹¹, implica origine e intrappolamento dei nuclei gassosi all'interno degli interstizi delle cellule endoteliali; infatti, l'interfaccia liquido-gas a livello dell'interstizio endoteliale presenta una superficie concava con un raggio di curvatura negativo che, per la legge di LaPlace, favorirà la diffusione di gas inerte dai tessuti cir-

costanti all'interno del nucleo, con la stabilizzazione del nucleo stesso. Solo quando la pressione esistente all'interno del nucleo si accrescerà fino a trasformare la superficie dell'interfaccia gas-liquido da concava a convessa, allora il nucleo si staccherà dall'endotelio, libero di circolare ed accrescersi nel distretto circolatorio venoso. È su questo modello che una pre-ossigenazione iperbarica potrebbe esplicare la sua azione: tramite la creazione di un gradiente di pressione parziale l'azoto presente in questi nuclei interstiziali verrà sostituito da ossigeno, gas metabolico poi utilizzato dai processi cellulari endoteliali, con la dissoluzione dei micronuclei.

Ruolo della denitrogenazione

Il processo di denitrogenazione è molto efficace nell'eliminazione del gas inerte, l'azoto, dall'organismo umano: mediante la respirazione in maschera di ossigeno si viene a diminuire la P_{pN_2} a livello alveolare creando quindi un cospicuo gradiente di pressione parziale (circa 500 mmHg) fra alveoli polmonari e tessuti dell'organismo. Si capisce come una pre-ossigenazione effettuata in condizioni di iperbarismo, come nel nostro studio (circa 900 mmHg di gradiente), possa incrementare l'efficacia di questa manovra. Per comprendere numericamente l'entità della denitrogenazione iperbarica di questo studio (16 msw, t 45', FiO_2 90%) si risolve l'equazione di saturazione/desaturazione dei gas (Heller-Mager-von Schrotter, 1900):

$$P_t = P_0 + [P_i - P_0] \times [1 - e^{-0.693 \times t / T(1/2)}]$$

dove, $P_0 = (10 - 0.627) \times 0.79 = 7.4$ (msw)

$$P_i = (16 - 0.627) \times 0.10 = 1.5$$
 (msw)

$T_{(1/2)} = 5, 10, \text{ e } 120$ minuti (prendendo in considerazione due compartimenti veloci ed uno lento a scopo comparativo)

$$P_t = 7.4 + [1.5 - 7.4] \times [1 - e^{-0.693 \times 45 / 5}] = 1.55$$
 (msw) ("tessuto" con periodo di 5')

$$P_t = 7.4 + [1.5 - 7.4] \times [1 - e^{-0.693 \times 45 / 10}] = 1.8$$
 (msw) ("tessuto" con periodo di 10')

$$P_t = 7.4 + [1.5 - 7.4] \times [1 - e^{-0.693 \times 45 / 120}] = 6.1$$
 (msw) ("tessuto" con periodo di 120')

Il *wash out* di azoto nei compartimenti veloci (cui può essere assimilato il sistema vascolare) è più efficace a dispetto di quelli lenti: questo dato ci permette di aggiungere un'ulteriore considerazione positiva circa l'ipotesi in studio sulla eliminazione dei micronuclei gassosi pre-esistenti.

A seguito di successiva compressione (40 msw, t 25', aria) analizziamo il comportamento dei "tessuti" sopradescritti, divisi in due gruppi, a seconda della effettuazione o meno della pre-ossigenazione.

No pre-oxygenation group

$$P_0 = (10 - 0.627) \times 0.79 = 7.4$$
 (msw)

$$P_i = (40 - 0.627) \times 0.79 = 31.1$$
 (msw)

$$P_t = 7.4 + [31.1 - 7.4] \times [1 - e^{-0.693 \times 25 / 5}] = 30.3$$
 (msw) ("tessuto" con periodo di 5')

$$P_t = 7.4 + [31.1 - 7.4] \times [1 - e^{-0.693 \times 25 / 10}] = 26.9$$
 (msw) ("tessuto" con periodo di 10')

$$P_t = 7.4 + [31.1 - 7.4] \times [1 - e^{-0.693 \times 25 / 120}] = 10.4$$
 (msw) ("tessuto" con periodo di 120')

Pre-oxygenation group

$$P_0 = 1.55$$
 (msw; 5'); $P_0 = 1.8$ (msw; 10'); $P_0 = 6.1$ (msw; 120')

$$P_i = (40 - 0.627) \times 0.79 = 31.1$$
 (msw)

$$P_t = 1.55 + [31.1 - 1.55] \times [1 - e^{-0.693 \times 25 / 5}] = 30.1$$
 (msw) ("tessuto" con periodo di 5')

$$P_t = 1.8 + [31.1 - 1.8] \times [1 - e^{-0.693 \times 25 / 10}] = 25.5$$
 (msw) ("tessuto" con periodo di 10')

$$P_t = 6.1 + [31.1 - 6.1] \times [1 - e^{-0.693 \times 25 / 120}] = 4.0$$
 (msw) ("tessuto" con periodo di 120')

Risulta evidente che la saturazione dei compartimenti veloci anche dopo pre-ossigenazione diviene comunque eguale per i due gruppi; in quelli lenti, una pre-ossigenazione consente, invece, di dimezzare l'entità della saturazione: questo a dimostrare che l'efficacia del pre-trattamento con ossigeno iperbarico non si esplica in favore del rapporto PN_2/P_a durante la successiva decompressione.

Ruolo dell'ossigeno iperbarico sull'attivazione leucocitaria

Recenti studi sulla fisiopatologia dell'intossicazione acuta da monossido di carbonio hanno messo in evidenza un'azione terapeutica positiva dell'ossigeno iperbarico che può esplicare la sua efficacia anche nei confronti della malattia da decompressione: l'O.I. è in grado di prevenire l'adesione dei polimorfonucleati (PMN) all'endotelio vascolare e di prevenire, quindi, gli eventi che determinano la cascata infiammatoria nei tessuti¹². Le interazioni fra una cellula e l'altra, come tra leucocita ed endotelio, sono molto importanti nella regolazione dei processi infiammatori: le proteine che mediano tali interazioni sono le cosiddette molecole di adesione. A livello vascolare, le molecole di adesione favoriscono il reclutamento dei leucociti all'interno del tessuto sottostante. Il blocco dell'espressione di queste molecole di adesione condurrebbe ad una drastica riduzione dell'attivazione del processo flogistico. L'adesione leucocitaria, in particolare, è mediata da molecole glicoproteiche eterodimeriche dette "integrine", le cui sottofamiglie sono definite da una subunità β legata a subunità α ; le integrine leucocitarie possiedono tutte subunità β_2 ¹³. L'azione inibente dell'O.I. sull'adesività dei PMN è localizzata proprio sulla funzionalità di quest'ultima subunità glicoproteica; il meccanismo esatto dell'inibizione è ancora oggetto di studio. I ligandi endoteliali per la famiglia delle β_2 -integrine sono rappresentati da molecole glicoproteiche simil-IgG note come Intercellular Adhesion Molecules 1 e 2 (ICAM-1, ICAM-2)¹⁴. Il trattamento con ossigeno iperbarico di soggetti, immediatamente prima di una esposizione ad aumentata pressione ambiente, potrebbe influire positivamente sulla succes-

siva decompressione tramite un'azione di inibizione dei trigger delle reazioni del sangue e dell'endotelio che portano a stimolare la cascata emocoagulativa ed infiammatoria. L'analisi dei dati sull'attività/aggregabilità piastrinica dopo pre-ossigenazione iperbarica rilevata nel nostro studio sembra supportare tale ipotesi di ricerca¹⁵.

■ Bibliografia

1. Richard D Vann, Ph D and Wayne A Gerth, Ph D, *Factor Affecting Tissue Perfusion and the Efficacy of Astronaut Denitrogenation for extra vehicular Activity*, Duke University Medical Center, 1994.
2. Dervay JP, Powell MR, Butler B, Fife CE, *The effect of exercise and rest duration on the generation gas bubbles at altitude*, Aviat. Space Environ. Medicine 2002; 73: 22-7.
3. Pilmanis AA, Webb JT, Kannan N, Balldin U, *The effect of repeated altitude exposures on the incidence of decompression sickness*, Aviat. Space Environ. Medicine 2002; 73: 525-31.
4. Bennett and Elliott, *Physiology and medicine of diving*, Saunders 5th Edition, 2003.
5. Yehuda Arieli, Ran Arieli, and Amit Marx, *Hyperbaric oxygen may reduce gas bubble in decompressed prawns by eliminating gas nuclei*, J. Appl. Physiol. 92: 2596-2599, 2002.
6. Marroni A, Cali-Corleo R, Denoble P, *Understanding the safety of recreational diving. DAN Europe's Project SAFE DIVE*, Proceeding of the International Joint Meeting on Hyperbaric and Underwater Medicine, Milano, 1996: 279-284.
7. Kisman K, Masurel G, *Method for evaluating circulating bubbles detected by means of the doppler ultrasonic method using the "K.M. CODE"*, Undersea Biomedical Research, supplement to Vol. 5, n° 1, March 1978, page 28.
8. Faralli F, *Monitoraggio doppler delle tabelle U.S. Navy ad aria con risalita a 10 metri al minuto*, Tesi di Specializzazione in Medicina del nuoto e delle attività subacquee, Univ. degli Studi di Chieti.
9. Morelli L, Neri A, Barnini M, Amoretti C, Bramani S, *Monitoraggio doppler post tech-diving della formazione di bolle gassose circolanti*, Atti congresso Simsi.
10. Yount DE, *Application of a bubble formation model to decompression sickness in rats and humans*, Aviat. Space Environ. Medicine 1979b; 50: 44-50.
11. Tikuisis P, *Modeling the observations of in vivo bubble formation with hydrophobic crevices*, Undersea Biomed. Res. 13: 165-180, 1986.
12. Thom SR, Mendiguren I, Hardy K, Bolotin T, Fischer D, Nebolon M and Kilpatrick L, *Inhibition of human neutrophil beta2-integrin-dependent adherence by hyperbaric O₂*, Am J Physiol Cell Physiol 272: C770-C777, 1997.
13. Vezzani G, *È utile conoscere le β_2 -integrine?*, Medicina subacquea ed iperbarica - marzo 1997.
14. Ferro A, *Scopriamo l'endotelio*, Excerpta medica, 2003.
15. Bosco G, Yang ZJ, Savini F, Nubile G, Data PG, Wang JP, Camporesi EM, *Environmental stress on diving-induced platelet activation*. Undersea Hyperb Med. 2001 Fall; 28(4): 207-1.