



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI CATANIA

**DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE
OTORINOLARINGOIATRICHE E AUDIOLOGICHE**

XXXIII CICLO

DOTT.SSA COLLURA SHEILA

***MECCANISMI IMMUNOLOGICI IMPLICATI NELLE AFFEZIONI
IMMUNOMEDIATE DELL'ORECCHIO INTERNO***

TESI DI DOTTORATO

Coordinatore

Chiar.mo Prof. Agostino Serra

Tutor

Chiar.mo Prof. Luigi Maiolino

0

INDICE

1. Introduzione

2. *La funzione immunitaria dell'orecchio interno*

3. Malattie autoimmuni dell'orecchio interno

3.1 *La malattia autoimmune dell'orecchio interno (AIED): necessarie precisazioni*

3.2 La MdM come malattia autoimmune

3.2.1 Il sacco endolinfatico

3.2.1.1 Autoanticorpi verso l'orecchio interno (reazione di tipo II)

3.3 Antigeni HLA nelle malattie autoimmuni dell'orecchio interno

3.4. Correlazione tra anticorpi e risposta agli steroidi

4. *Presentazione clinica e protocolli diagnostico-terapeutici*

5. *Limiti e vantaggi del laboratorio.*

6. *Materiali e metodi della ricerca.*

6.1 *Anamnesi ed esame obiettivo*

6.2 Selezione del campione da esaminare

6.3 Raccolta dei dati

6.4 Analisi dei risultati

6.5 Campione

6.6 Discussione

6.7 Distribuzione delle alterazioni immunitarie sistemiche osservate

Bibliografia

MECCANISMI IMMUNOLOGICI IMPLICATI NELLE AFFEZIONI IMMUNOMEDIATE DELL'ORECCHIO INTERNO

1. Introduzione

Alcune disfunzioni cocleovestibolari possono essere causate da un “danno immunomediato”, termine che denota un’afezione causata da aberrazioni del sistema immunitario.

Un sistema immunitario integro è fondamentale per la sopravvivenza: distingue il “self” dal “non-self” e ci permette così di sopravvivere in un ambiente potenzialmente ostile. L’incapacità di reagire ad autoantigeni è conosciuta come “tolleranza”. La tolleranza implica che i linfociti dell’ospite non siano attivati dall’interazione con i tessuti dell’ospite. Quindi, “autoimmunità” definisce uno stato in cui la tolleranza verso il “self” è stata persa.

La patogenesi dell’autoimmunità coinvolge vari fattori genetici, immunologici e virali che interagiscono attraverso complicati meccanismi ancora poco conosciuti.

Ogni struttura anatomica dell’orecchio è soggetta a possibili influenze immunologiche.

Studi sperimentali hanno dimostrato che la risposta primaria all'inoculazione di antigeni *non self*, mirata contro le strutture dell'orecchio interno si estrinseca con una persistenza locale d'infiltrati linfoplasmacellulari, comparsa di anticorpi nella perilinfa ed eventuale sviluppo di una reazione autoimmunitaria a cascata che si auto-mantiene.

Clinicamente alterazioni dell'orecchio interno possono presentarsi come associazione di patologie immunitarie sistemiche, quali: *lupus eritematoso sistemico, artrite reumatoide, Sindrome di Behcet, Sindrome di Sjogren, Relapsing Polichondritis, Rettocolite ulcerosa, Sindrome di Cogan, alterazioni vasculitiche varie.*

Nette evidenze a favore di una genesi immunomediata sono state ravvisate in casi di perdita uditiva neurosensoriale idiopatica accompagnata da alterazioni vestibolari.

Queste patologie hanno una discreta regressione quando trattate con immunodepressori.

2. La funzione immunitaria dell'orecchio interno.

Comunemente si considera l'orecchio interno come organo immune privilegiato, al riparo da coinvolgimenti immunitari, così come avviene per il cervello per la presenza rispettivamente di una barriera emato-labirintica ed

emato-encefalica. I livelli d'immunoglobuline nel liquido cefalorachidiano sono circa 1/1000 rispetto a quelle presenti nel siero e i leucociti non superano detta barriera in circostanze normali.

Recenti studi hanno messo in evidenza che cellule T attivate possono superare i capillari encefalici. L'endotelio capillare indotto da citochine esprime molecole di adesione che riconoscono i recettori sui linfociti mediando il loro travaso. In definitiva sembra che l'encefalo dotato normalmente di limitata immunocompetenza-sorveglianza possa qualora necessario reclutare linfociti dalla circolazione generale per organizzare un'adeguata risposta immune.

Analogamente la funzione immunitaria dell'orecchio interno sembra simile a quella encefalica.

Il labirinto è separato dalla circolazione generale dalla barriera emato-labirintica.

il suo scopo principale è quello di mantenere costanti le concentrazioni ioniche dei fluidi cocleari. Come il LCR la perilinfa contiene circa 1/1000 della concentrazione serica di immunoglobuline. Le IgG sembrano quelle maggiormente rappresentate seguite da IgM e IgA in concentrazioni via via decrescenti.

L'orecchio interno dunque mostra una spiccata tendenza all'immunoreazione.

Parimenti a quanto osservato in encefalo, il sacco endolinfatico (SEL) gioca un ruolo di primo piano nella risposta immune dell'orecchio interno.

il sacco contiene una popolazione residente di linfociti. E' stato evidenziato come la risposta immunitaria dell'orecchio interno e il danno cocleare si riducano dopo distruzione del sacco e/o del dotto.

Tuttavia il ruolo del sacco endolinfatico non risulta pienamente chiaro in considerazione del fatto che la coclea non contiene di norma linfociti che qualora presenti in corso di risposta immune, non sembrano provenire dal SEL.

I linfociti che rispondono all'immuno-stimolazione provengono dalla circolazione generale e penetrano nell'orecchio interno verosimilmente attraverso la vena spirale del modiolo.

L'endotelio della vena spirale assume caratteri di adesività durante la risposta immune secondaria, reclutando i linfociti e favorendo la loro migrazione.

Macrofagi del SEL si fanno carico di presentare l'antigene e di attivare la produzione di Immunoglobuline da parte di linfociti T. La risposta immunitaria dell'orecchio interno si fa carico di proteggere le strutture cocleari dall'aggressione di virus ed altri agenti infettivi. Le delicate strutture dell'orecchio interno sono particolarmente vulnerabili a queste risposte infiammatorie. Tuttavia è bene chiarire che reazioni autoimmunitarie locali sono causa di danno cocleare in caso di malattie immunomediate dell'orecchio

interno. Tutti e quattro i tipi di reazione immunitaria descritti da Geli e Coombs sembrano essere contemplate in caso di malattia dell'orecchio interno.

L'antigene implicato nel danno immunomediato può essere endogeno, oppure può essere un epitopo esogeno, come un antigene virale, alimentare o farmacologico, che causa una cross-reazione. Il coinvolgimento dell'orecchio interno può essere anche secondario nel corso di una malattia autoimmune sistemica. In questo caso il danno è causato dalla deposizione di immunocomplessi.

Un gran numero di malattie autoimmuni possono coinvolgere la coclea ed il labirinto (Ryan et al 2001). Il coinvolgimento dell'orecchio interno nel corso di malattie autoimmuni è stato descritto per la Sindrome di Cogan, la vasculite a cellule giganti, la poliarterite nodosa, la policondrite remittente, il lupus eritematoso sistemico, la Sindrome di Sjogren, la malattia di Wegener, la sarcoidosi, la vasculite da ipersensibilità e la malattia di Behcet.

Anche le malattie infiammatorie intestinali, l'artrite reumatoide, la miastenia gravis e la vasculite acuta disseminata possono essere associate ad ipoacusia (Giani T et al 2006).

Il coinvolgimento audiovestibolare in queste malattie autoimmuni si manifesta con un ampio spettro di sintomi e con variabilità di unilateralità o bilateralità

(1), di caratteristiche d'esordio (2), di rapporto tra il coinvolgimento uditivo e quello vestibolare (3), di evoluzione (4) e risposta alla terapia (5).

Per quanto riguarda l'autoimmunità, l'eziologia di molte affezioni dell'orecchio interno è sconosciuta, ma alcune, come anche la MdM, l'ipoacusia neurosensoriale progressiva (PSNHL) e l'ipoacusia improvvisa, potrebbero essere di origine autoimmune. Nelle ultime due decadi sono stati condotti molti studi su questa problematica, ed i dati indicano che autoanticorpi e linfociti sensibilizzati potrebbero avere un ruolo chiave in alcune malattie dell'orecchio interno, sia per quanto riguarda la patogenesi, sia il loro mantenimento nel tempo.

Secondo la classificazione di Gell e Coombs del 1968 (Rajan TV, 2003), esistono quattro tipi di meccanismo di reazione immune, tutti potenzialmente coinvolti anche nel danno a carico dell'orecchio interno;

Reazione di tipo I

Questo tipo di reazione è mediato dalle IgE e caratterizza l'allergia inalatoria e l'anafilassi. In questo caso un antigene reagisce con una mastcellula sensibilizzata, la quale rilascia delle sostanze vasoattive come l'istamina, causando vasodilatazione.

La reazione di I tipo IgE mediata é caratterizzata dal rilascio di istamina ed altre sostanze vasoattive da parte di mastcellule attivate. Le sostanze vasoattive suddette indurrebbero vasodilatazione, modificazione della concentrazione ioniche nei liquidi labirintici, risultando in un idropendolinfatica.

Oggi, la maggior parte degli Autori ritiene improbabile un coinvolgimento di queste reazioni nella genesi della MdM.

Reazione di tipo II

Si chiama anche reazione citotossica ed avviene nel caso in cui un'immunoglobulina specifica (autoanticorpo) è diretta contro un autoantigene costituente una cellula o un organo. In seguito ad una reazione di tipo autoimmune, oppure nel caso di una cross-reazione con un antigene esogeno, come un virus o un farmaco, viene attivata la cascata del complemento.

La reazione di II tipo si verifica qualora anticorpi diretti contro un antigene tessutale specifico siano in grado di scatenare la cascata complementare. Mediante Western Blot è stata riscontrata la presenza di una proteina di 68 kDa nel siero di pazienti con sospetta sordità neurosensoriale immunomediata.

Pazienti menierici hanno manifestato un'abnorme reattività nei confronti del collagene di tipo II rispetto ai controlli.

Reazione di tipo III

La reazione di tipo III è caratterizzata dalla formazione di complessi immuni in seguito ad una reazione con un antigene endogeno, oppure esogeno, come un microorganismo o un farmaco. Il sistema reticolo endoteliale normalmente rimuove questi immunocomplessi, ma quelli di grandezza intermedia possono sfuggire a questo controllo e diventare biologicamente attivi. Essi possono arrestarsi nei piccoli vasi o in alcuni tessuti, come il glomerulo renale o la cute, dove l'attivazione del complemento conduce ad un'inflammatione locale o alla distruzione del tessuto.

La reazione di III tipo è dovuta alla deposizione di immuno complessi di medie dimensioni nel microcircolo. Conseguenza di detta deposizione è un danno vascolare con conseguente danno alle strutture labirintiche, a sostegno di questa teoria il riscontro di un'occlusione di un vaso da parte di immunoglobuline evidenziato con fluorescenza del sacco endolinfatico di un paziente menierico. Perdita uditiva e deficit vestibolari sono stati messi in evidenza in pazienti affetti da tipiche malattie da immunocomplessi quali il Lupus e la Granulomatosi di Wegener.

Reazione di tipo IV

Questa reazione è di tipo cellulo-mediato ed è caratterizzata da un'ipersensibilità ritardata. Un esempio di reazione di tipo IV è il rigetto di un organo trapiantato: antigeni sulla superficie cellulare dell'organo bersaglio sono riconosciuti da cellule T attivate, le quali lisano direttamente le cellule, oppure producono citochine che a loro volta richiamano altre cellule infiammatorie responsabili del danno.

La reazione di IV tipo di ipersensibilità ritardata T mediata tipica delle reazioni di rigetto post-trapianto.

Reazioni di questo tipo sono tipiche della Sindrome di Cogan.

3. Malattie autoimmuni dell'orecchio interno

La malattia autoimmune dell'orecchio interno (l'AIED degli Autori Anglosassoni) può considerarsi una relativamente nuova entità eziologica che si caratterizza per perdita uditiva improvvisa o rapidamente progressiva che va ad aggiungersi alla classica triade virale, vascolare o da rottura di membrana. E' stato prospettato che ciò debba considerarsi fenomeno autoimmunitario primario o come conseguenza di esposizione di antigeni "immuno-privilegiati" a seguito di un evento traumatico od infiammatorio. Diversi Autori in considerazione della scarsa conoscenza dei meccanismi e degli antigeni implicati negano dignità nosologica a detta affezione.

E' tuttavia innegabile che una buona percentuale di pazienti con sospetta AIED, in trattamento per sordità progressiva od irreversibile, beneficino di terapie a base di immunosoppressori/corticosteroidi, qualora somministrati precocemente.

McCabe descrisse per primo nel 1979 l'AIED.

3.1 La malattia autoimmune dell'orecchio interno (AIED): necessarie precisazioni.

La malattia autoimmune dell'orecchio interno è raramente diagnosticata e frequentemente non presa in esame nella diagnosi differenziale, qualora si valutino pazienti con perdita uditiva neurosensoriale progressiva. Tuttavia se correttamente individuata l'AIED può essere suscettibile di adeguato trattamento.

Lenhardt nel 1958 ipotizzò che anticorpi anticoclea potessero causare una sordità neurosensoriale bilaterale, anche se non fu in grado di suffragare la sua teoria. Nel 1979, McCabe notò in alcuni soggetti una sordità neurosensoriale bilaterale asimmetrica ingravescente nel giro di settimane o mesi che si accompagnava a deficit vestibolari. Una discreta percentuale di pazienti mostrava un risentimento facciale associato alla perdita uditiva. Questi pazienti risultavano responsivi alla terapia steroidea. Queste evidenze lo condussero a descrivere una nuova sindrome autoimmunitaria con sordità

neurosensoriale.

Molti progressi sono stati fatti dalla prima pregevole intuizione di McCabe tuttavia le cause esatte che conducono all'AIED rimangono in parte poco chiare.

3.2 La MdM come malattia autoimmune

È stato ipotizzato che la MdM possa essere un'affezione immunomediata o addirittura autoimmune. Ci sono varie evidenze che supportano questa ipotesi:

1. Il sacco endolinfatico è il sito della risposta immune dell'orecchio interno e allo stesso tempo è anche un potenziale bersaglio;
2. Presenza di anticorpi verso l'orecchio interno, immunocomplessi circolanti (CIC) e anticorpi antivirali;
3. Associazione con certi loci HLA;
4. Risposta positiva alla terapia steroidea.

3.2.1 Il sacco endolinfatico

Oggi è noto come il sacco endolinfatico abbia un ruolo essenziale nel mantenimento dell'omeostasi dell'orecchio interno. In risposta a cambiamenti osmotici, esso secreta attivamente glicoproteine nel proprio lume ed è attivo anche metabolicamente (Takumida M et al,1989). Il sacco endolinfatico è

quindi essenziale per mantenere l'equilibrio dei fluidi dell'orecchio interno, ed una sua alterata funzione può causare l'idrope endolinfatico (Arenberg IK et al,1970).

È stato ipotizzato un possibile ruolo di immunodifesa del sacco endolinfatico: alcuni Autori hanno dimostrato la presenza di cellule coinvolte nella risposta immunitaria (linfociti e macrofagi attivati) e di elevati livelli di IgG all'interno del sacco endolinfatico (Rask-Anderson H e Stahle J, 1980; Harris JP, 1984).

Negli anni '70 è stata riprodotta sperimentalmente una condizione simile alla MdM, sensibilizzando il sacco endolinfatico di animali con antigeni eterologhi. (Kumagani H et al, 1976).

Il sacco endolinfatico non si limita ad un ruolo di immunodifesa, ma possiede delle caratteristiche che lo rendono un potenziale sito di danno immunomediato: in primo luogo, i capillari del sacco endolinfatico sono di tipo fenestrato (Leone CA et al, 1984), e quindi più permeabili e più frequentemente soggetti a deposizione di complessi immuni, ed in secondo luogo, l'endolinfa è relativamente iperosmotica rispetto al plasma. Questo potrebbe incrementare la concentrazione locale di complessi immuni e favorirne la deposizione. Infatti, depositi di IgG sono stati dimostrati nel 40% dei campioni di sacco endolinfatico appartenenti a pazienti sottoposti ad intervento chirurgico,

suggerendo l'implicazione di complessi immuni (Dornhoffer JL et al, 1993). Inoltre, la fibrosi subepiteliale, la riduzione numerica dei vasi sanguigni e l'assottigliamento e la discontinuità epiteliale, ben documentati con la microscopia ottica ed elettronica, indicano che il danno a carico del sacco endolinfatico e dell'orecchio interno possa essere mediato da meccanismi immuni (Arenberg IK et al, 1982; 1985).

3.2.1.1 Autoanticorpi verso l'orecchio interno (reazione di tipo II)

- *Proteine di 68 kDa*

Sono stati condotti numerosi studi intenti ad identificare anticorpi circolanti malattia-specifici che si legano a strutture dell'orecchio interno o ad antigeni dell'orecchio interno purificati.

Soliman (1992) fece reagire dei preparati di orecchio interno di cavia con sieri di pazienti affetti da MdM. Nel 34% dei casi avvenne una reazione positiva. Questo risultato suggerisce la possibile presenza di uno specifico autoanticorpo contro l'orecchio interno.

Harris e Sharp (1990) hanno studiato i sieri di pazienti con ipoacusia neurosensoriale progressiva (PSNHL) facendoli reagire con estratti di orecchio

interno bovino. Nei pazienti patologici era possibile osservare una migrazione a singola o doppia banda a

kDa. Billings et al (1995) hanno proposto che la proteina di 68 kDa sia una heat shock protein 70 (hsp70). Successivamente, Nair et al (2004), invece, hanno identificato la proteina di 68 kDa come una proteina di trasporto colina-simile di tipo 2 (CTL-2). La colina è necessaria per la sintesi di acetilcolina, il neurotrasmettitore prevalente nei terminali nervosi colinergici. L'acetilcolina gioca un ruolo importante anche nella neurotrasmissione dell'orecchio interno e potrebbe essere coinvolta nel reuptake della colina da parte delle cellule di sostegno.

È quindi possibile che, usando CTL-2 come autoantigene per la diagnosi, ci potremmo aspettare una migliore correlazione clinica rispetto a hsp70 o la proteina bovina di 68 kDa, usati molto negli ultimi 20 anni.

Riente et al (1994) hanno studiato la reattività del siero di pazienti affetti da MdM contro antigeni di orecchio interno bovino, riscontrando una reazione positiva ad antigeni di 44 e 53 kDa.

Sono state trovate altre proteine nei preparati di tessuto dell'orecchio interno bovino, che avrebbero una qualche reattività con i sieri di pazienti affetti da malattie dell'orecchio interno. Queste proteine includono antigeni non-organo-

specifici con masse molecolari di 62, 55, 50 e 47 kDa e antigeni orecchio interno specifici di 220, 60, 58, 35, 33 e 32 kDa. Le proteine di 200, 60 e 58 kDa sono state trovate anche nel rene bovino. Per alcuni non sono state trovate differenze significative tra pazienti e controlli e pertanto il significato clinico rimane ancora da definire.

- *Proteina di 30 kDa e Proteina P0*

Cao et al (1995) hanno osservato come pazienti affetti da ipoacusia neurosensoriale (SNHL) o MdM possiedano anticorpi contro una proteina di 30 kDa di cavia. Questa proteina è stata identificata come proteina P0 della mielina del nervo acustico e del ganglio spirale ed è espressa nelle cellule di Schwann del sistema nervoso periferico.

La P0 è una molecola di adesione appartenente alla superfamiglia delle immunoglobuline. Tra le varie specie ci sono solo poche variazioni amminoacidiche nella sequenza di P0. La malattia di Charcot-Marie-Tooth, associata anche ad ipoacusia, è legata a mutazioni del gene codificante la proteina P0, localizzato sul cr. 1q21-23 (Kulkens T et al, 1993).

Alcuni Autori hanno individuato una proteina di 30 kDa estratta dall'orecchio interno umano in grado di reagire con il siero di pazienti affetti da MdM,

tuttavia non è chiaro se questa proteina sia identica alla proteina P0 (Passali D et al, 2004).

Il livello di anticorpi anti-P0 è stato messo recentemente in relazione con SNHL da Nuti et al (2002). Dallo studio risulta che la P0 potrebbe rappresentare un marker per la SNHL bilaterale.

- *La proteina RAF-1*

È stata scoperta una proteina di 28 kDa, identificata come proteina Raf-1, della membrana dell'orecchio interno di cavia che reagisce fortemente con il siero di pazienti affetti da MdM (Cheng KC et al,2000). Questa proteina è una protein-chinasi serina-treoninaspecifica con la funzione di trasduttore del segnale, e appartiene alla famiglia delle proteine Raf costituita da tre membri: Raf-1, A-Raf e B-Raf. La Raf-1 è una proteina non-tessuto-specifica che gioca un ruolo chiave in una cascata di chinasi che regola la proliferazione e la differenziazione cellulare.

In 113 pazienti affetti da MdM, il 46% è risultato positivo a quest'antigene, ma solo due dei 26 pazienti affetti da PSNHL erano reattivi alla proteina Raf-1 ricombinante. Probabilmente, nella MdM, il titolo anticorpale è molto più elevato rispetto a quello dei pazienti con PSNHL. Inoltre è possibile che questa

proteina di 28 kDa sia una nuova proteina non identica ma simile a Raf-1 (Boulassel MR et al, 2001).

Le tre proteine degli studi citati (hsp70, P0 e Raf-1) sono proteine non-tessuto-specifiche e di conseguenza non sono specifiche per i tessuti dell'orecchio interno.

- *Tubulina*

Nei tessuti dell'orecchio interno di cavia è presente una proteina di 52 kDa identificata successivamente come tubulina (Du X, 2003).

La tubulina è una proteina maggiore intracellulare che fa parte della struttura dei microtubuli, strutture dinamiche (Slepecky NB et al, 1995) fondamentali per la funzione delle cellule sensoriali e strutturali dell'organo del Corti dell'orecchio interno (Furness DN et al, 1990). Le funzioni dei microtubuli includono il movimento di organuli subcellulari, la determinazione della polarità e forma cellulare e il mantenimento della struttura cellulare stessa.

In pazienti con MdM è stato trovato un titolo elevato di anticorpi contro questa proteina (Yoo et al, 2001). Un titolo elevato di anticorpi è riscontrabile anche in pazienti con polineuropatia cronica demielinizzante (Tagawa Y et al, 1999).

- *Collagene e affezioni autoimmuni dell'orecchio interno*

Alcuni tipi di collagene (in particolare collagene di tipo I e II) sono presenti nell'orecchio interno di varie specie animali, tra cui roditori, polli e scimmie (Yoo TJ e Tomoda K, 1988; Ishibe T et al, 1989).

Secondo alcuni Autori, il collagene costituisce probabilmente uno degli antigeni più importanti per la patogenesi dell'autoimmunità a livello dell'orecchio. Yoo et al (1982) sono stati i primi a trovare un elevato titolo anticorpale contro il collagene di tipo II bovino in pazienti con otosclerosi. Altri studi hanno dimostrato l'associazione di anticorpi con collagene di tipo II e varie affezioni dell'orecchio interno, come MdM, PSNHL idiopatica e sordità improvvisa (Soliman AM, 1990; Yoo TJ et al, 2001).

In base a studi su animali, è possibile affermare che gli anticorpi anti-collagene giocano un ruolo centrale nella patogenesi di alcune affezioni dell'orecchio interno. In particolare, Matsuoka et al (2002) hanno condotto uno studio che suggerisce che l'autoimmunità contro il collagene di tipo II sia responsabile dell'insorgenza di ipoacusia neurosensoriale associata ad idrope endolinfatico. Questi risultati non sono in accordo con quelli di Fattori et al (1994):

secondo uno studio eseguito all'Università di Pisa, autoanticorpi contro il collagene non avrebbero alcun ruolo nella patogenesi della MdM.

- *Immunocomplessi e complemento*

Esistono molte evidenze in letteratura che supportano l'ipotesi di un'implicazione di immunocomplessi nelle affezioni dell'orecchio interno: comparando il titolo di immunocomplessi circolanti e di IgG nel siero di pazienti menierici, essi avevano un titolo significativamente aumentato rispetto ai controlli sani (Futaki T e Shju M, 1988; Yazawa Y e Kitahara M, 1989; Hsu L et al, 1990).

Altri Autori (Dornhoffer JL et al, 1993) hanno dimostrato la deposizione di IgG nell'area subepiteliale del sacco endolinfatico in pazienti con MdM sottoposti a chirurgia del sacco endolinfatico.

Questi risultati suggeriscono un'affezione sistemica precedente che conduce alla formazione di immunocomplessi e che coinvolge secondariamente l'orecchio interno. Tra queste affezioni citiamo il LES, la granulomatosi di Wegener e la Sindrome di Behcet, nelle quali è stata osservata un miglioramento dei sintomi vestibolocoleari in seguito a plasmferesi o trattamento immunosoppressivo (Campbell SM et al, 1983; Shea JJ, 1983; Bowman CA et al, 1986; Kempf HG, 1989). Gli immunocomplessi circolanti più frequentemente riscontrati sono costituiti da IgM e dalla componente C1q del complemento, mentre la quota di IgA è bassa (Brooks GB, 1986; Hsu L et

al, 1990). Studi immunoistologici hanno dimostrato la presenza di depositi di C3 e C1q a livello del labirinto membranoso (Futaki T et al, 1988).

- *L'assetto linfocitario nelle malattie autoimmuni dell'orecchio interno (reazione di tipo IV)*

Cellule T suppressor (Ts), cellule T helper (Th=CD4), cellule T citotossiche (Tc=CD8) e cellule B giocano un ruolo importante nel controllo della produzione di anticorpi e dell'immunità cellulare.

Alcune cellule Ts potrebbero essere responsabili della tolleranza, inibendo la risposta immunitaria contro anticorpi.

Nella MdM, Tomoda et al (Tomoda K et al, 1993) hanno riscontrato un aumento significativo del rapporto CD4/CD8 e una diminuzione di cellule CD8 nel 38% dei pazienti studiati, mentre Fattori et al(1994) hanno riscontrato un rapporto CD4/CD8 normale in pazienti affetti da MdM.

È possibile indagare sul coinvolgimento di questo tipo di reazione a livello dell'orecchio interno utilizzando dei test di laboratorio, come il test di trasformazione linfocitaria con cui viene misurata la differenza di proliferazione dei linfociti del paziente in presenza o assenza di preparati di orecchio interno. (Hughes GB et al, 1984).

La Sindrome di Cogan, una rara sindrome caratterizzata da disfunzione vestibolococleare progressiva simil menierica e infiammazione oculare acuta, è verosimilmente mediata da una reazione di tipo IV, nonostante ci siano anche evidenze per un coinvolgimento di una reazione di tipo III. Istopatologicamente sono stati trovati infiltrati cellulari mononucleari a livello cocleare e corneale (Barna BP e Hughes GH, 1988) e test immunologici hanno suggerito un meccanismo di autoimmunità cellulo-mediata contro preparati di antigeni di orecchio interno e coclea (Hughes GB et al,1983).

3.3 Antigeni HLA nelle malattie autoimmuni dell'orecchio interno

Il complesso maggiore di istocompatibilità (MHC) è costituito da una serie di loci sul braccio corto del cromosoma 6 che codificano per gli antigeni leucocitari umani (HLA).

L'HLA gioca un ruolo importante nel controllo delle interazioni cellulari responsabili della risposta immune. Le molecole di classe I e II legano antigeni proteici e formano complessi che vengono riconosciuti da linfociti T antigene-specifici. In particolare, gli antigeni associati a molecole di classe I sono riconosciuti da linfociti T CD8 citolitici (CTLs), mentre antigeni associati a molecole di classe II sono riconosciuti dai linfociti T helper (CD4). È dunque possibile che la suscettibilità per molte malattie di probabile natura autoimmune

sia legata all'assetto ereditario dei geni HLA. Tiwari e Terasaki (1981) riportano più di 3000 malattie associate più o meno direttamente al sistema HLA.

Usando anticorpi per i vari alleli, sono stati fatti vari tentativi di correlare l'assetto sierologico di HLA con diverse malattie dell'orecchio interno a probabile eziologia autoimmune. Questi studi indicano una suscettibilità per malattie dell'orecchio interno associata al MHC, nonostante la natura dell'associazione rimanga controversa.

In particolare, sono stati chiamati in causa i geni relativi al sistema HLA di classe II come responsabili di una suscettibilità alla MdM. Confrontando studi su gruppi di pazienti di differenti etnie, appare che questa suscettibilità potrebbe essere legata a prodotti genici diversi. (Xenellis J et al, 1986; Bowman CA e Nelson RA, 1987; Matsuki K et al, 1989; Steuer MK et al, 1990; Bumm P et al, 1991; Cao MY et al, 1996).

Patologie quali MdM, SNHL ma anche neuronite vestibolare e ipoacusia progressiva, presentano un'associazione di vario grado con HLA-B35, -Cw7, -DR4, -Bw54, -DR13. Particolarmente interessante si è rivelata l'associazione tra MdM e HLA A1/B8/DR3 caratterizzata da un aumento significativo dei suddetti alplotipi. È ben conosciuto come diverse malattie autoimmuni, quali la

Malattia di Addison, la Sindrome di Sjogren, la miastenia gravis, il Diabete Mellito di tipo 1, il Morbo celiaco e LES sono associati all'aplotipo B8/DR3 (Bernstein JM et al, 1996).

3.4. Correlazione tra anticorpi e risposta agli steroidi

La risposta positiva agli steroidi suggerisce una possibile eziologia immunitaria della MdM (Shea JJ, 1983; Hughes GB et al, 1988).

In studi prospettici sull'efficacia del prednisone in pazienti con PSNHL idiopatica, i pazienti con anticorpi diretti contro la proteina dell'orecchio interno di 68 kDa o contro il collagene di tipo II, hanno risposto meglio al trattamento steroideo rispetto a pazienti senza autoanticorpi. Non tutti i dati presenti in letteratura, però, confermano che pazienti con autoanticorpi positivi presentino una responsività al trattamento immunosoppressivo diversa rispetto a pazienti senza autoanticorpi (Veldman JE et al, 1993).

4. Presentazione clinica e protocolli diagnostico-terapeutici

La malattia autoimmune dell'orecchio interno colpisce per il 65% le donne e per il restante 35% gli uomini.

Si presenta tipicamente come sordità neurosensoriale che progredisce da settimane a mesi.

Non è infrequente notare la presenza di una effusione sierosa nell'orecchio

medio che può' essere scambiata sulle prime per otite media sierosa, che tuttavia risulta resistente alle comuni terapie. L'udito è tipicamente fluttuante e ingravescente; di comune riscontro instabilità, sensazione di orecchio pieno, dizziness.

In base ai sintomi su descritti non infrequentemente viene posta una diagnosi iniziale di sindrome di Meniere.

Classicamente il deficit uditivo è asimmetrico.

Nel 79% dei pazienti la sordità è bilaterale. I sintomi iniziali spesso comprendono vertigini di tipo periferico. Un terzo dei pazienti non sembra accusare sintomi vestibolari, la funzione vestibolare viene persa gradatamente, tuttavia i pazienti sviluppano fin dall'esordio atassia, disturbi posturali ed a lungo termine iporeflettività vestibolare bilaterale.

Il 29% di pazienti è affetto da una malattia autoimmune sistemica. è difficile a tutt'oggi identificare un protocollo diagnostico univoco per AIED.

5. Limiti e vantaggi del laboratorio.

Un test di laboratorio definitivo e diagnostico non è ancora individuabile e il trattamento empirico con steroidi espone il paziente a rischio di complicanze sistemiche con scarsa valutazione in termini di costo-beneficio.

I due test più accreditati in grado di dimostrare una reazione immuno mediata

nell'orecchio interno sembrano essere il test di trasformazione linfocitaria e il Western Blot.

Offriremo una sintetica descrizione di quest'ultimo test, da noi per altro utilizzato nel corso della ricerca, nei materiali e metodi.

I nostri sforzi si sono concentrati sulla positività all'elettroforesi su gel nei confronti di un anticorpo di 68 kDa e una heat shock protein di 70 kDa (hsp70).

Autoimmunità in corso di Sindromi immunomediate sistemiche.

Oltre che come malattia autoimmune organo-specifica dell'orecchio interno, la perdita uditiva autoimmune può associarsi con patologie sistemiche quali la sindrome di Cogan, la Granulomatosi di Wegener, la Poliarterite nodosa, la Arterite temporale, la policondrite da Rilascio, la Tromboangiite Obliterante di Buerger e il Lupus, tutte affezioni sostenute da processi vasculitici o degenerativi.

La patogenesi della perdita uditiva neurosensoriale e del deficit vestibolare immunomediato non è chiara, ma verosimilmente si tratta di processi vasculitici a carico dei vasi dell'orecchio interno, autoanticorpi diretti contro determinanti antigenici o anticorpi cross reagenti.

La *sindrome di Cogan* (CS) è una affezione autoimmune che colpisce la cornea e l'apparato oto-vestibolare, descritta per la prima volta da Cogan nel 1940.

Colpisce prevalentemente giovani adulti di età compresa tra 22 e 29 anni e nella sua manifestazione tipica con cheratite interstiziale (lacrimazione, fotofobia, dolore) e attacchi vertiginosi simil menierici, atassia, tinnito, nausea e vomito, con perdita uditiva che si sviluppa in alcuni mesi o anche più. I sintomi oto-vestibolari possono precedere o seguire le manifestazioni oftalmiche da 1 a 6 mesi.

La CS può associarsi talvolta con altre manifestazioni sistemiche tipico di processi infiammatori come la arterite di Takayasu o la vasculite dei vasi di medio calibro.

Circa il 10 % dei pazienti sviluppa una aortite entro settimane o anni dall'inizio della malattia. Le fluttuazioni nell'udito coincidono con esacerbazioni e remissioni della malattia che termina spesso in sordità (circa 67% dei pazienti sviluppa sordità bilaterale).

Studi istopatologici condotti in sede autoptica su osso temporale di pazienti affetti da CS hanno messo in evidenza la presenza di processi infiammatori quali infiltrazione linfoplasmacellulare del legamento spirale, degenerazione cistica della stria vascolare, idrope endolinfatica, alterazioni degenerative dell'organo del Corti e del ganglio spirale, demielizzazione e atrofia delle branche vestibolari e cocleari dell'VIII nervo cranico.

La causa della CS è sconosciuta ma verosimilmente legata alla

immunocompetenza di occhio ed orecchio. Cogan e collaboratori hanno evidenziato una positività al test di trasformazione linfocitaria qualora il siero di pazienti venga combinato con antigeni corneali. Hughes è arrivato alle stesse conclusioni dopo esposizione con antigeni dell'orecchio interno. Questi risultati dimostrerebbero la presenza di fenomeni autoimmunitari diretti contro cornea e orecchio interno.

La *Granulomatosi di Wegener* è un disordine sistemico immunomediato con necrosi granulomatosa e vasculite che colpisce organi ed apparati (per lo più il tratto respiratorio superiore: seni paranasali, naso, orecchio e trachea) cui talvolta si associa glomerulonefrite necrotizzante. Sintomi otologici sono presenti nel 20-25% dei pazienti sotto forma di otite media sierosa. Alcuni pazienti sviluppano una sordità neurosensoriale responsiva al trattamento corticosteroidico.

Anche in questo caso la lesione anatomico-patologica più frequente è la vasculite in grado di danneggiare le strutture labirintiche. L'eziologia è sconosciuta; la presenza di a) ipergammaglobulinemia, autoanticorpi circolanti e anticorpi anti-citoplasma dei neutrofili (ANCA e b) la rapida e completa risposta alla terapia con farmaci citotossici suggeriscono l'ipotesi di una patogenesi di tipo immunologico

La *Policondrite Ricorrente* (Relapsing Polycondritis) è una malattia

multisistemica rara, poco conosciuta, difficile da diagnosticare e potenzialmente pericolosa per la vita. E' caratterizzata da episodi ricorrenti di infiammazione dei tessuti cartilaginei. Tutti i tipi di cartilagine possono essere interessati comprese le cartilagini elastiche dei padiglioni auricolari e del naso, le cartilagini fibrose dei dischi vertebrali, le cartilagini ialine delle piccole e grandi articolazioni e le cartilagini tracheo-bronchiali. ma anche altri tessuti particolarmente ricchi di proteoglicani come occhio, cuore , vasi, orecchio interno, possono essere coinvolti nel processo infiammatorio. Sintomi sistemici come febbre, letargia e perdita di peso sono abbastanza comuni e può essere presente una vasculite dei vasi cutanei o degli organi interni.

Nella maggioranza dei pazienti ha un decorso fluttuante ma progressivo durante il quale le periodiche riacutizzazioni portano alla distruzione delle strutture interessate. In una minoranza di casi il pattern della malattia è più limitato.

Non esistono test specifici per la diagnosi che rimane soprattutto clinica.

I pazienti con Policondrite Ricorrente si rivolgono inizialmente prevalentemente all'otorinolaringoiatra, al reumatologo o all'oculista. In un recente studio l'intervallo medio dall'insorgenza dei primi sintomi e dalla prima visita medica alla diagnosi era di 2,9 anni.

Questo ritardo riflette bene le ambiguità diagnostiche che si riscontrano nella malattia. Il ritardo nella diagnosi era di oltre un anno nel 68% dei 66 pazienti

studiati e oltre 1/3 dei pazienti erano visitati da oltre 5 medici prima della diagnosi.

Le manifestazioni cliniche rappresentano la chiave per raggiungere la diagnosi di Policondrite Ricorrente. L'insorgenza della malattia è generalmente improvvisa. Più spesso si tratta di un *dolore all'orecchio esterno* quasi invariabilmente diagnosticato come una pericondrite infettiva dell'orecchio. A tal proposito vale la pena di notare come, a differenza dei processi infettivi, la Policondrite Ricorrente risparmia il lobulo che manca di cartilagine

Altre presentazioni frequenti sono il dolore al naso, mal di gola o difficoltà a parlare. I sintomi nasali e respiratori in presenza di perdita di peso e febbre possono mimare la granulomatosi di Wegener ma questa interessa anche tessuti non cartilaginei ed è frequentemente associata alla positività degli ANCA. Più raramente i pazienti si presentano con un quadro clinico caratterizzato da alterazione della funzione uditiva e sintomi vestibolari come vertigini, atassia, nausea e vomito con possibilità, nel caso l'insorgenza sia di acuta, di mimare un attacco ischemico cerebrale. In genere i sintomi vestibolari regrediscono col tempo ma il danno uditivo è più spesso permanente. Se i sintomi audiovestibolari si accompagnano a un quadro oculare di cheratite interstiziale sorgono problemi differenziali con la S. di Cogan.

La diagnosi di Policondrite Ricorrente può essere molto difficile da formulare. Un aiuto viene dai criteri di McAdam e colleghi che hanno formulato un algoritmo diagnostico che attualmente è diffusamente accettato.

Criteri diagnostici di McAdam per la diagnosi di Policondrite Recidivante:

1. *Condrite bilaterale auricolare*
2. *Poliartrite infiammatoria non erosiva sieronegativa*
3. *Condrite nasale*
4. *Infiammazione oculare: Episclerite. congiuntivite. uveite. cheratite.*
5. *Condrite del tratto respiratorio: laringeo o tracheale*
6. *Disfunzioni cocleari o vestibolari: sordità neurosensoriale, tinnito, vertigini.*

Nuovi criteri:

Almeno 3 criteri di McAdam

Uno o più dei criteri di McAdam con conferma istologica
Condrite in almeno 2 siti anatomici diversi che risponde a terapia con steroidi o dapsonsone.

La *Panarterite Nodosa (PAN)* è una affezione sistemica caratterizzata da vasculite necrotizzante di vasi di medio e piccolo calibro specie renali. La perdita uditiva è di raro riscontro in corso di malattia benché descritta da numerosi Autori. Studi condotti su campioni di osso temporale hanno

evidenziato intensi fenomeni vasculitici con ischemia, necrosi, osteogenesi e fibrosi. E' verosimile che la vasculite sia potenziale causa di perdita uditiva e che l'affezione vada tenuta in conto in quei casi in cui sia presente una profonda sordità neurosensoriale di incerta origine.

6. Materiali e metodi della ricerca.

A) SELEZIONE DEI SOGGETTI

Sono stati inclusi nella ricerca soggetti dai 18 agli 80 anni con diagnosi accertata o presunta di patologia autoimmune con anamnesi di ipoacusia e vertigini resistenti alle terapie tradizionali.

B) VALUTAZIONE DEL CAMPIONE

I soggetti sono stati sottoposti ad accurata anamnesi, ad esame obiettivo locale, ad audiometria tonale liminare, impedenzometria, elettrocochleografia, e potenziali evocati auditivi del tronco encefalico (ABR).

C) CRITERI DI ESCLUSIONE DAL CAMPIONE

1) Deficit uditivo di tipo trasmissivo (che presuppone lesioni della membrana timpanica, delle articolazioni sinoviali eccetto la stapedio-ovalare priva di sinovia e/o lesioni della porzione cartilaginea della tuba)

2) Sindromi da immuno-deficienza acquisite o congenite

- 3) Soggetti sottoposti a chemioterapia antitumorale
- 4) Soggetti in terapia long term con farmaci oto-vestibolo tossici
(es. cloroquina, indometacina, FANS)
- 5) Familiarità dell'otopatia
- 6) Familiarità della labirintopatia
- 7) Labirintopatia congenita
- 8) Cerebellopatie congenite od acquisite
- 9) Eventi traumatici a carico del sistema oto-vestibolare

D) SCOPI DELLA RICERCA

- 1) identificazione di possibili indicatori di laboratorio in grado di confermare la diagnosi di alterazione oto-vestibolare su base autoimmune.
- 2) utilizzo del Western-Blot come test specifico per la ricerca di antigeni dell'orecchio interno
- 3) selezione dei casi Western-Blot positivi.
- 4) valutazione della regressione dei sintomi vestibolari a medio e lungo termine sui soggetti selezionati mediante instillazione intra-timpanica, via drenaggio trans-timpanico, di basse dosi di corticosteroidi (desametasone).
- 5) rivalutazione dei soggetti al termine del ciclo terapeutico topico mediante audiometria tonale, VNG, ABR .

6.1 Anamnesi ed esame obiettivo

La valutazione diagnostica di pazienti inizia con una accurata anamnesi ed esame obiettivo.

I dettagli delle circostanze in cui si è sviluppata la perdita uditiva e il tempo in cui si è instaurata vanno indagati con precisione; verrà altresì annotato la presenza di sintomi associati quali vertigine, acufeni, dizziness, e sensazione di orecchio pieno.

L'esperienza clinica ha evidenziato come 1/3 dei pazienti noti la perdita uditiva già al risveglio e almeno la metà di questi riferiscono vertigini. Ai pazienti andrà chiesto di eventuali interventi precedenti a carico dell'orecchio, l'uso di farmaci ototossici e eventuali infezioni virali pregresse del tratto respiratorio superiore; si indagherà anche sull'eventualità di diabete, malattie autoimmuni, neoplasie maligne, polisclerosi e alterazioni della coagulazione.

Benché l'AIED sia considerata da molti autori come causa di sordità neuro sensoriale improvvisa, il quadro tipico dell'AIED in realtà differisce dalle altre forme di sordità improvvisa per il suo carattere rapidamente progressivo (da settimane a mesi).

La perdita uditiva fluttua in relazione alla attività della malattia. Le manifestazioni sistemiche sono in genere assenti ed è ciò che distingue queste

affezione dagli altri disordini autoimmunitari. Meno del 30 % di pazienti hanno una associazione con una patologia autoimmune, circa il 50 % presentano dizziness, moderata atassia piuttosto che vertigini franche.

Generalmente gli attacchi si verificano più volte nel corso della giornata al contrario di quello che si verifica nella Meniere tipica in cui gli episodi vertiginosi si verificano due o tre volte per settimana. Qualche paziente riferisce anche sensazione di ovattamento auricolare ovvero di tensione e acufeni. Generalmente i sintomi suddetti progrediscono nel giro di settimane o mesi ma non mancano i casi in cui la malattia esordisca in forma di perdita uditiva improvvisa od ancora come stato di malattia che si protrae anche per parecchi anni.

In linea di massima i pazienti presentano una alterazione bilaterale e qualora sia presente instabilità, non infrequentemente i test di riflettività labirintica mostrano una iporeflessia bilaterale.

L'AIED generalmente si manifesta con maggiore frequenza nelle donne di mezza età, ma può anche presentarsi indifferentemente in entrambi i sessi ovvero iniziare nell'infanzia.

Almeno un esame audiometrico tonale con impedenzometria dovrebbe essere eseguito in tutti i pazienti con perdita uditiva improvvisa o rapidamente progressiva.

L'audiogramma è senza dubbio alla base di una corretta diagnosi e fornisce di numerose ed importanti informazioni sulla prognosi. Esso andrà ripetuto nel corso della malattia per documentarne la progressione, monitorare gli eventuali interventi terapeutici o la risoluzione dell'affezione.

Di seguito riportiamo un elenco di indagini di laboratorio sia a scopo di screening sia di monitoraggio dell'iter dell'affezione.

Vale il principio della scelta in relazione al sospetto clinico, alla storia naturale dell'affezione e sulla base di corretta anamnesi:

1 Esami ematochimici di routine.

2 Test di eritrosedimentazione(VES).

3 Proteina C-reattiva(PCR).

4 Glicemia, colesterolo e trigliceridi.

5 T3, T4, Tsh.

6 Test di immunità cellulare antigene specifica

7 Test di migrazione ; Western Blot.

Per molti autori la diagnosi di AIED si basa sulla presenza di una perdita uditiva neurosensoriale bilaterale progressiva e la risposta agli immunosoppressori.

Per Hughes i test clinici più significativi per la diagnosi di AIED sono: *il test di migrazione linfocitaria e il Western blot.*

Sono questi due test immunologici antigene specifici.

La sensibilità del test di migrazione linfocitaria si attesta intorno al 50% - 80 % con specificità prossima al 93 %, con valore di predittività positiva del 56-73 % in relazione alla prevalenza della malattia nella popolazione esaminata. Qualora applicato ad una popolazione ad alto rischio, il western blot ha una sensibilità pari a 88%, una specificità dell'80% e un valore di predittività positiva del 92%.

Affinché questi test diano una informazione corretta è necessario un alto livello di auto-anticorpi circolanti.

A causa dell'andamento capriccioso con esacerbazioni e remissioni delle affezioni da noi prese in considerazione i suddetti test dovrebbero essere eseguiti con malattie in fase attiva e prima che qualsiasi trattamento venga iniziato.

Di contro i suddetti test non possono essere considerati routinari ed alla portata di tutti i laboratori ; la difficoltà maggiore in corso di trials chimici come questo è la disponibilità di strutture e personale addestrato all'esecuzione degli essi.

I test vanno eseguiti su campioni di sangue intero da inviare presso laboratori specializzati.

Abbiamo così deciso di affidare i campioni di sangue prelevati dalla coorte di pazienti da noi esaminati al laboratorio di immunoreumatologia di questo Ateneo.

Va da sé che il gold standard in studi di questo tipo sarebbe l'utilizzo di un test in grado di rappresentare qualora positivo un marker specifico per la affezione in esame; cosa questa ancora assolutamente teorica, almeno al momento.

6.2 Selezione del campione da esaminare.

I soggetti esaminati vengono selezionati qualora non sussistano violazioni dei criteri di esclusioni sopra anticipati (punto C) e siano risultati positivi al W.Blot per almeno una proteina ricercata (68 Kda — HSP 70).

	25Kd	28 Kd	30 Kd	32 Kd	40 Kd	42 Kd	46 Kd	52 Kd	67 Kd	79 Kd
Meniere's disease	2 (8%)	7 (28%)	2 (8%)	0	0	0	1 (4%)	5 (20%)	4 (16%)	1 (4%)
Otosclerosis	2 (33%)	0	0	0	0	0	0	1 (17%)	0	1 (17%)
HL and Tinnitus	0	2 (33%)	0	0	1 (17%)	1 (17%)	0	0	0	0
Progressive SNHL	0	0	0	1 (50%)	0	1 (50%)	0	1 (50%)	1 (50%)	0
Cogan's Syndrome	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sudden deafness	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Strial	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

atrophy										
Hereditary HL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Syphilitic labyrinthitis	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (100%)	1 (100%)
TOTAL	4 (9%)	9 (20%)	2 (4%)	1 (2%)	1 (2%)	2 (4%)	1 (2%)	7 (16%)	6 (13%)	3 (7%)

Abbiamo selezionato in 30 mesi di attività, 44 pazienti con sospetta

sordità neurosensoriale associata a malattie sistemiche immunomediate, di questi 36 anno superato i criteri di esclusione e appena 26 hanno acconsentito a proseguire l'iter diagnostico-terapeutico da noi proposto manifestando il loro consenso per iscritto.

Dei 24 soggetti scelti due hanno abbandonato volontariamente la ricerca per sopraggiunti motivi personali. A questi soggetti abbiamo aggiunto 10 controlli sicuramente sani reclutati tra il personale medico e paramedico di questa struttura Universitaria

Desametasone per via trans-timpanica

Abbiamo voluto valutare nei pazienti da noi esaminati se il trattamento con corticosteroidi per via trans-timpanica (desametasone) possa rappresentare una valida alternativa al trattamento sistemico in quasi casi in cui questi non sia applicabile o non sortisca gli effetti indesiderati

Ci siamo prefissi al contempo di valutare se un eventuale successo terapeutico in termini di recupero o miglioramento della funzione uditiva e vestibolare, possa confermare indirettamente la natura immunomediata del deficit neurosensoriale.

Tecnica di somministrazione.

Abbiamo eseguito una timpanotomia nel quadrante postero-inferiore con paziente sotto anestesia locale (EMLA2%).

Abbiamo al contempo ispezionato la finestra rotonda per via endoscopica per verificare la presenza di briglie o aderenze potenzialmente in grado di limitare la perfusione della finestra rotonda.

E' stato applicato un drenaggio trans-timpanico attraverso la breccia timpanotomica.

E' stato somministrato desametasone alla concentrazione di 25mg/ml attraverso il tubo di drenaggio con pz. con testa inclinata di **45** gradi invitandolo a non deglutire per almeno 20 minuti, utilizzando una siringa per intradermoreazione alla tubercolina e un ago lungo per anestesia spinale.

L'instillazione è stata effettuata sotto visione microscopica, con la punta del micro-ago appena sporgente nella cassa attraverso l'apertura del tubo di ventilazione in modo da consentire una necessaria fuga di aria ed evitare la formazione di bolle d'aria.

E' stata utilizzata circa 0.4 ML di soluzione per singola perfusione. Abbiamo lasciato che la soluzione cortisonica perfondesse l'orecchio medio per circa 30 minuti. Il protocollo di somministrazione ha previsto quattro perfusioni dilazionate in 15 giorni.

Il primo esame audiometrico di controllo è stato effettuato dopo 2 settimane dal termine del trattamento confrontandolo con le audiometrie effettuate all'ingresso e durante le somministrazioni.

6.3 Raccolta dei dati

Abbiamo utilizzato una scheda per ciascun paziente per la raccolta dei dati relativamente al protocollo terapeutico (appendice B). Per motivi di privacy sulla scheda viene riportato un codice alfanumerico.

La raccolta dei dati prevede:

Id. paziente, età, sesso, audiometria pre e post-trattamento, a 7-14 gg dalla sospensione, segni vestibolari pre e post-trattamento.

6.4 Analisi dei risultati

Il trattamento è da considerarsi significativo qualora si apprezzi un miglioramento maggiore o uguale a 10 db della soglia tonale liminare e

comparsa di iporeflessia vestibolare.

Guadagni inferiori sono da considerarsi non significativi.

6.5 Campione

Dei 70 pazienti giunti alla nostra osservazione per patologie otovestibolari varie, 36 sono risultati positivi al Western Blot per proteina di 68 Kda e HSP 70 e pertanto inclusi nel protocollo suddetto. 24 pazienti hanno acconsentito a sottoporsi al trattamento proposto previa somministrazione di adeguato consenso informato.

In 18 pazienti la terapia steroidea sistemica non aveva dato apparenti benefici.

L'età media è stata di 60 anni con range compreso tra 29 ed 81. Il gruppo esaminato comprendeva 12 uomini e 10 donne.

Il miglioramento della soglia tonale dopo perfusione intratimpanica è stato osservato in dieci soggetti (44%). 12 pazienti non hanno mostrato alcuna significativa modificazione della soglia tonale (52%). Il guadagno medio è stato di 15 dB circa.

La comparsa di iporeflessia vestibolare nell'orecchio trattato è stata osservata in 11 soggetti con tempo medio di nystagmo di 45 secondi. In base all'età non si è apprezzata alcuna differenza statisticamente significativa tra sogg. più vecchi di 60 anni e quelli più giovani di 60 anni. Tuttavia il guadagno di soglia si è

apprezzato più favorevolmente nei pazienti più giovani.

In base al sesso non differenze statisticamente significative benché una pur minima prevalenza nella percentuale di recupero di soglia si sia osservata negli uomini (58 contro 27%).

6.6 *Discussione*

Diversi autori hanno riportato i vantaggi del trattamento con corticosteroidi per via sistemica.

Se i corticosteroidi sono responsabili del miglioramento uditivo è verosimile che il sito in cui agiscano sia rappresentato dalla coclea.

La somministrazione di steroidi per via trans timpanica può rappresentare una alternativa nei casi in cui si voglia raggiungere una elevata concentrazione topica del farmaco nell'orecchio interno, evitando la distribuzione sistemica dello stesso.

Questa tecnica riduce quando non eliminare gli effetti sistemici e le possibili complicanze long-term di una terapia steroidea.

Va sottolineato peraltro che gran parte dei soggetti esaminati venivano già trattati cronicamente con alti dosaggi o cicli di immunodepressori/corticosteroidi che non raggiungevano probabilmente elevate concentrazioni nell'orecchio interno.

Il 44% di successi da noi osservato sembrerebbe un risultato non entusiasmante,

ma se si considera che il trattamento sistemico non ha sortito gli effetti sperati, può considerarsi un risultato discreto. In vero il guadagno medio di soglia che si attesta intorno ai 10 db non sembra eclatante, in considerazione anche del fatto che alcuni pazienti non hanno riferito un miglioramento soggettivo della sensazione uditiva.

Relativamente alla possibilità che l'orecchio interno, se sollecitato da antigeni sistemici, possa organizzare una risposta autonoma che si auto mantiene, ulteriori studi potrebbero confermare che il guadagno in soglia da noi esaminato sia legato immunodepressione topica non collegata all'andamento dell'affezione sistemica.

La scarsità del guadagno e la bassa percentuale di successo è da correlarsi alla persistenza dell'insulto immunitario sistemico in grado di innescare e continuare lo stimolo locale qualora le concentrazioni e gli effetti degli steroidi per via intratimpanica cessino o si riducano.

Questa affermazione si fa più plausibile se si considera che in parecchi soggetti le fasi di remissione dell'affezione sistemica si accompagnano a miglioramento uditivo.

Se si considera che i pazienti sono stati esaminati con malattia sistemica in fase attiva e concomitante riduzione uditiva, è ragionevole pensare che nel nostro caso il trattamento topico indotto una immunodepressione locale responsabile

del miglioramento uditivo ovvero la reversione di fenomeni infiammatori vasculitici tipici delle immunopatie in esame.

Concludiamo che i presenti studi sono tutt'altro che definitivi e suscettibili di ulteriori approfondimenti.

6.7 Distribuzione delle aterazioni immunitarie sistemiche osservate

>36 pazienti: positivi per proteina 68 kda e HSP 70 al W. Blot

>20 pazienti con immunopalogie sistemiche:

4 : Sindrome di Cogan

3: Policondrite Ricorrente

7: forme miste

2: G. di Wegener

4: Les

>14 menierici

>2 fuori campione

Bibliografia

1. Lenhardt E. Plotzliche Horstorungen, auf beiden Seiten gleichzeitig oder nacheinander aufgetreten. *Z Laryngol Rhinol Otol* 1958;37:1-16.
2. McCabe BF. Autoimmune sensorineural hearing loss. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1979;88:585-589.
3. Harris JP, Sharp P. Inner ear autoantibodies in patients with rapidly progressive sensorineural hearing loss. *Laryngoscope* 1990;97:63-76.
4. Harris JP, Ryan AF. Fundamental immune mechanisms of the brain and inner ear. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1995;112:639-53.
5. Harris JP, Woolf NK, Ryan AG. Elaboration of systemic immunity following inner ear immunization. *Am J Otolaryngol* 1985;6:148-52.
6. Harris JP. Immunology of the inner ear: evidence of local antibody production. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1984;93:157-62.
7. Woolf NK, Harris JP. Cochlear pathophysiology associated with inner ear immune responses. *Acta Otolaryngol* 1986;102:353-64.
8. Takahashi M, Harris JP. Analysis of immunocompetent cells following inner ear immune stimulation. *Laryngoscope* 1988;98:1133-8.
9. Tomiyama S, Harris JP. The role of the endolymphatic sac in inner ear immunity. *Acta Otolaryngol* 1987;103:182-8.
10. Darmstadt GL, Keithley EM, Harris JP. Effects of cyclophosphamide on the pathogenesis of cytomegalovirus induced labyrinthitis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1990;99:960-8.
11. Dornhoffer JL, *et al.* Pathophysiological mechanisms in immune inner ear disease. *Acta Otolaryngol* 1997;Suppl 526:30-6.
12. Soliman AM. Immune-mediated inner ear disease. *Am J Otol* 1992;6:575-9.
13. Yoo TJ, *et al.* Type II collagen-induced autoimmune sensorineural hearing loss and vestibular dysfunction in rats. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1983;92:267-71.
14. Yazawa Y, Kitahara M. Immunofluorescent study of the endolymphatic sac in Meniere's disease. *Acta Otolaryngol* 1989;Suppl 468:71-6.
15. Derebery MJ, *et al.* Meniere's disease: an immune complex mediated illness? *Laryngoscope* 1991;101:225-9.
16. Dornhoffer JL, *et al.* Immunoperoxidase study of the endolymphatic sac in Meniere's disease. *Laryngoscope* 1993;103:1027-34.
17. Bowman CA, *et al.* Sensorineural hearing loss associated with systemic lupus erythematosus. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1986;94:197-204.

18. Kempf HG. Ear involvement in Wegener's granulomatosis. *Clin Otolaryngol* 1989;14:451-6.
19. Hughes GB, *et al.* Autoimmune reactivity in Meniere's disease: a preliminary report. *Laryngoscope* 1983;93:410-7.
20. Hughes GB, *et al.* Autoimmune reactivity in Cogan's syndrome: a preliminary report. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1983;91:24-32.
21. Harris JP, Moscicki RA, Hughes GB. Immunologic disorders of the inner ear. In: Hughes GB, Pensak ML, eds. *Clinical Otolology* 2nd ed. New York:Thieme;1997:381-91.
22. Hughes GB, *et al.* Clinical diagnosis of immune inner ear disease. *Laryngoscope* 1988;98:251-3.
23. Hughes GB, *et al.* Laboratory diagnosis of immune inner ear disease. *Am J Otol* 1994;15:198-202.
24. Moscicki RA, *et al.* Serum antibody to inner proteins in patients with progressive hearing loss. *JAMA* 1994;272:611-6.
25. Hirose K, Wener MH, Duckert LG. Utility of laboratory testing in autoimmune inner ear disease. *Laryngoscope* 1999;109:1749-54.
26. Gussen P. Polyarteritis nodosa and deafness: a human temporal bone study. *Arch Otorhinolaryngol* 1977;217:263-71.
27. Jenkins HA, Pollak AM, Fisch U. Polyarteritis nodosa as a cause of sudden deafness: a human temporal bone study. *Am J Otolaryngol* 1981;2:99-107.
28. Cogan DG, Sullivan WR. Immunologic study of non-syphilitic interstitial keratitis with vestibuloauditory symptoms. *Am J Ophthalmol* 1975;80:491-4.
29. Hughes GB, *et al.* Autoimmune reactivity in Cogan's syndrome: a preliminary report. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1983;91:24-32.
30. Littlejohn MC, Yoo JK, Bailey BJ. Granulomatous diseases of the head and neck. In: Bailey BJ, ed. *Head and Neck Surgery-Otolaryngology* 2nd ed. Philadelphia:Lippincott-Raven Publishers;1998:205-218.
31. McDonald TJ, DeRemee RA. Wegener's granulomatosis. *Laryngoscope* 1983;93:220-31.
32. Brama I, Fainaru M. Inner ear involvement in Beh, et's disease. *Arch Otolaryngol* 1980;106:215-7.
33. Kastanioudakis I, *et al.* Inner ear involvement in rheumatoid arthritis: a prospective clinical trial. *J Laryngol Otol* 1995;109:713-8.
34. Derebery MJ, Valenzuela S. Meniere's syndrome and allergy. *Otolaryngol Clin N AM* 1992;25:213-24.
35. Gottschlich S, *et al.* Assessment of serum antibodies in patients with idiopathic progressive sensorineural hearing loss and Meniere's disease. *Laryngoscope* 1995;105:1347-52.

36. Harris JP, Aframian D. Role of autoimmunity in contralateral delayed endolymphatic hydrops. *Am J Otol* 1995;15:710-6.
37. McCabe BF. Autoimmune inner ear disease: therapy. *Am J Oto* 1989;10:196-7.
38. Luetje CM, Berliner KI. Plasmapheresis in autoimmune inner ear disease: long-term follow-up. *Am J Otol* 1997;18:572-6.
39. Sismanis A, Wise CM, Johnson GD. Methotrexate management of immune-mediated cochleovestibular disorders. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1997;116:146-52.

Sinossi A – Sog. Inclusi nella ricerca

Pz. ID.	C.N.	età	Sex	Sindrome	W.B.	S. Vest.	SA	Dh .IT	T.G.	T.G. LT	note
1											
2											
3											
4											
5											
6											
7											
8											
9											
10											
11											
12											
13											
14											
15											
16											
17											
18											
19											
20											
21											
22											
23											
24											
25											
26											
27											
28											
29											
30											
31											
32											
33											
34											
35											
36											

Allegati

Test Clinico della Funzione Vestibolare

Pazienteanni.....

Data esame.....

Prove Vestibolari Spontanee

- Nystagmo: _____
- Romberg: _____
- Indice -Naso: _____
- Indicazione: _____
- Marcia: _____
- Prove cerebellari: _____

Prova Calorica di Veits (20°) durata in sec. (v.n. 90-120 sec)

Au DX _____ NY _____ **DEVIAZIONI** _____

Au SX _____ NY _____ **DEVIAZIONI** _____

CONCLUSIONI:

Pre Trattamento

Test Clinico della Funzione Vestibolare

Pazienteanni.....

Data esame.....

Prove Vestibolari Spontanee

- Nystagmo: _____
- Romberg: _____
- Indice -Naso: _____
- Indicazione: _____
- Marcia: _____
- Prove cerebellari: _____

Prova Calorica di Veits (20°) durata in sec. (v.n. 90-120 sec)

Au DX _____ *NY* _____ *DEVIAZIONI* _____

Au SX _____ *NY* _____ *DEVIAZIONI* _____

CONCLUSIONI:

Post Trattamento