

Frontiera ORL

Periodico di Otorinolaringologia, Patologia Cervico Facciale, Audiologia e Foniatria
Periodic of otolaryngology, cervico-facial pathology, audiology and speech therapy



Anno IX, N. 1 - gennaio 2019
Year IX, N. 1 - January 2019



Periodico trimestrale
rivolto alla classe medica
Quarterly magazine for medical class

Direttore editoriale/Editor
Ortensio Marotta

Coordinatore di redazione
Editorial Coordinator
Vito Marotta

Direttore responsabile/Editor chief
Ortensio Marotta

Hanno partecipato a questo numero
R. Menicagli, M. Duca, M. Ingo, A. Brunetti,
A. Elefante, G. Caliendo, A. Caruso,
A. M. Di Lullo, M. Cavalieri, N. Balica,
S. Cotulba, M. Poenaru, A. H. Marin,
C. Doros, S. Lupescu, E. R. Boia, H. Stefanescu,
G. Nicoletti, S. Scavola, A. Fagi, E. Mevio,
M. Sbrocca, M. Mullace, N. Mevio,
L. Migliorini, Mohamed Wael Mustafa

Redazione/Editorial office
Via Fuga, 64 - Caserta

Dialogo con i lettori/
Dialogue with readers
Ortensio Marotta
ortensio.marotta@alice.it
339.6681530

Registrazione/ Registered
Tribunale di S. Maria Capua Vetere
n°765 del 22/06/2010

Info: www.frontieraorl.it
ortensio.marotta@alice.it

In questo numero...

- 1) Il carcinoma verrucoso di Ackerman
- 2) La sindrome PFAPA
- 3) BPPV Ipovitaminosi D
- 4) Carcinoma squamocellulare primitivo della ghiandola parotide con fistola sialo-cutanea: un raro caso clinico
- 5) Studio in vitro degli effettivi dell'inalazione di coticosteroidi sulla mucosa orale e laringea
- 6) Scalocele post-traumatico del dotto parotideo: case report

In this number...

- 1) Ackerman's Verrucous Carcinoma
- 2) PFAPA Syndrome
- 3) BPPV and Hypovitaminosis D
- 4) Primary squamous cell carcinoma of parotid gland with sialo-cutaneous fistula: a rare clinical case
- 5) Study in vitro of the effects of corticoxyteroid on the oral and laringeal mucosa
- 6) Post-traumatic scalocele of parotid duct: report of a case

è inserita:

- in DOAJ (*Directory of Open Access Journals*, <http://www.doaj.org>)
- nel database mondiale delle riviste on-line
- nell'elenco delle riviste scientifiche italiane
- nel database locale della biblioteca digitale SFX (*Sistema Bibliotecario di Ateneo*) a disposizione dell'Università di Napoli "Federico II"
- il titolo "Frontiera ORL" è inserito, da tempo, nell'autorevole ACNP (*Archivio Collettivo Nazionale dei Periodici*)
- in DOAJ (*Directory of Open Access Journals*, <http://www.doaj.org>)
- in the global database of Italian scientific journal on-line
- in the italian scientific journals
- in the digital library SFX (*university library system*) fully accessible to the University of Naples "Federico II"
- the title "Frontiera ORL" is included in the ACNP (*Periodicals Archive National Collective*)

is included:

IL CARCINOMA VERRUCOSO DI ACKERMAN.

PRESENTAZIONE DI UN CASO CLINICO

Autori: *Prof. Dott. Guillermo Stok, **Dra. Carolina Lòpez Sanabria.

Introduzione Il carcinoma verrucoso di Ackerman è un raro tipo di carcinoma squamoso, ben differenziato, che può manifestarsi a livello delle corde vocali così come nella cavità orale.

Il carcinoma verrucoso fu dapprima descritto come un'entità fisiopatologica distinta dal dott. Ackerman nel 1948.

La laringe è il secondo sito più colpito, dopo la cavità orale. L'incidenza del carcinoma verrucoso della laringe varia tra 1% e il 2% di tutte le neoplasie maligne che colpiscono l'organo, soprattutto tra i 40 e i 69 anni. Esiste una chiara associazione tra il consumo di tabacco e il carcinoma verrucoso, così come la presenza del papilloma virus umano risulta essere un possibile fattore eziologico, in particolar modo i genotipi 16 e 18.

E' un tumore verrucoso ben differenziato, a lenta crescita che invade le strutture locali senza dare metastasi a distanza, mentre le metastasi locali sono rare.

Macroscopicamente appare come una massa verrucosa con una notevole componente papillare sulla superficie epiteliale. Il quadro istologico del carcinoma verrucoso è quello di una lesione iperplastica epiteliale ben differenziata. Ciò che caratterizza questo tumore è la superficie densamente cheratinizzata e i margini profondi ben delimitati spesso descritti come "spinti al confine". Dal momento che la regione glottica è il sito più comune per il carcinoma verrucoso, il sintomo più frequente risulta essere la disfonia di lunga durata. Le recidive locali sono frequenti se il trattamento non è adeguato. L'andamento benigno permette un trattamento conservativo soprattutto attraverso l'uso dell'endoscopia laser. L'asportazione selettiva dei linfonodi non è indicata.

Caso clinico

Paziente obeso di 50 anni, con dispnea persistente che peggiora camminando e in posizione supina. Pervietà di flusso soprasternale e sopraclavicolare. Disfonia progressiva.

Storia di microchirurgia laringea nel 2013 per lesione papillomatosica della corda vocale di destra. La biopsia praticata nel 2013 confermava la diagnosi di lesione papillomatosica vegetante con abbondante componente vascolare.

Nel dicembre 2016 perveniva per dispnea e disfonia. Alla fibrolaringoscopia si evidenziava una lesione occupante lo spazio glottico, vegetante, cheratinizzata di tipo papillomatosico. La lesione della corda vocale destra e della mucosa veniva asportata mediante chirurgia laringea con laser a CO₂. Non vi era invasione del legamento vocale. Le vie aeree erano pervie e il paziente veniva dimesso dopo 5 ore.

Al controllo al 1° mese vi era assenza di lesione ed eccellente qualità della voce e del respiro. La biopsia repertava la presenza di aree tumorali di aspetto papillomatoso e presenza di carcinoma verrucoso.

Discussione

Il carcinoma verrucoso è una forma di carcinoma a cellule squamose con specifiche caratteristiche cliniche, morfologiche e citogenetiche. Il termine carcinoma verrucoso si riferisce ai tumori squamosi mucosi esofitici o cutanei che si addensano sulla superficie epiteliale con aspetto micronodulare papillare.

Originano più frequentemente dalla cavità orale (55.9%) e nella laringe (35.2%). Sebbene la maggior parte dei pazienti siano maschi (60%), i tumori della cavità orale sono più comuni nelle femmine in età avanzata.

Nonostante il carcinoma verrucoso sia correlato al consumo di tabacco e alla presenza del papilloma virus umano, la sua eziologia non è ancor ben definita.

I tumori con coinvolgimento laringeo originano più frequentemente a livello delle corde vocali vere. L'incidenza del carcinoma verrucoso della laringe varia tra l'1 e il 2 % di tutte le neoplasie maligne che colpiscono l'organo con un picco di incidenza tra i 40 e i 69 anni.

I sintomi più comuni del carcinoma verrucoso laringeo sono la disfonia e la dispnea gradualmente ingravescente. La diagnosi viene confermata solo mediante biopsia e in alcuni casi sono necessarie più biopsie tra l'epitelio e lo stroma sottostante. Alla laringoscopia, queste lesioni appaiono verrucose ed esofitiche, spesso gli aspetti istopatologici del carcinoma verrucoso sono descritti come lesioni squamose ben differenziate con invasione locale attraverso un'invaginazione intrastromale a crescita discendente contenenti sottili vasi sanguigni fibrosi.

Il carcinoma verrucoso è racchiuso in un quadro istologico che va da lesione iperplastica squamosa benigna a carcinoma a cellule invasive. Distinguere il carcinoma verrucoso da processi benigni può risultare difficile. Per definizione, tutti i carcinomi verrucosi sono classificati come ben differenziati (o grado 1).

Per differenziare il carcinoma verrucoso dalla cheratosi, dalla verruca volgare o dal carcinoma squamoso con aspetti verrucosi, è necessario ottenere margini profondi di escissione della lesione al fine di evidenziare la presenza di microscopici foci di carcinoma squamoso invasivo interni o adiacenti la lesione cheratosica.

Clinicamente la lesione appare grigiastra, esofitica, verrucosa che tende a crescere lentamente. Non sono associate metastasi ai linfonodi cervicali.

Il comportamento clinico del carcinoma verrucoso può essere distruttivo nonostante il suo aspetto microscopico ingannevolmente benigno. Queste lesioni possono crescere molto e infiltrare ampiamente fino a distruggere i tessuti adiacenti inclusa la cartilagine e l'osso. La presenza di linfoadenopatia cervicale è dovuta all'iperplasia secondaria dei linfonodi come risultato della reazione infiammatoria dell'interfaccia stromale del tumore.

Nel 94.9% dei casi riportati in letteratura, la malattia si è estesa solo localmente, con minima invasione delle strutture adiacenti (?) e metastasi regionali in un solo caso (0.8%). Metastasi a distanza non sono state evidenziate in nessun caso presentato. Nonostante la locale natura aggressiva, le metastasi del carcinoma verrucoso sono estremamente rare. La chirurgia è il trattamento principale riuscendo a raggiungere un tasso di controllo locale che va dal 77 % al 100%.

L'uso della radioterapia come trattamento è dubbio, per la scarsa quantità di casi clinici.

Oltre ad avere un risposta parziale con la terapia radiante, alcuni lavori hanno evidenziato la possibile insorgenza del carcinoma anaplastico dopo radioterapia per la presenza del papilloma virus umano.

Conclusioni

I carcinomi verrucosi di Ackerman sono tumori rari. In caso di sospetta presenza tumorale, per evitare diagnosi errate, dovrebbe essere eseguita la resezione totale e non la biopsia superficiale.

Il trattamento di scelta è la chirurgia endoscopica o laringotomia. Il trattamento con radioterapia potrebbe fornire un'adeguata risposta e la possibile trasformazione in carcinoma anaplastico .

Ackerman's Verrucous Carcinoma. Presentation of a clinical case

Autores: * Prof. Dr. Guillermo Stok, **Dra. Carolina López Sanabria.

*Prof. Cátedra de ORL, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Tucumán, Argentina. Médico staff Hospital Centro de Salud Zenón Santillán, Tucumán, Argentina.

** Médico de staff Hospital San Bernardo, Salta, Argentina.

Introduction

The verrucous carcinoma of Ackerman is a rare and well differentiated tumor of the squamous carcinoma, that can manifest in the vocal cords as in the oral cavity.

Verrucous carcinoma was first described as a distinct clinicopathological entity by Dr. Ackerman in 1948. Although found primarily in the oral cavity, the larynx is the second most affected site, accounting for almost all cases.¹

The incidence of verrucous carcinoma of the larynx is 1% to 2% of all malignant neoplasms that affect this organ, mostly between the ages of 40 and 69 years.²

There is a clear association between tobacco consumption and verrucous carcinoma, as well as the presence of papilloma virus as a possible etiological factor, especially genotypes 16 and 18.³

It is a well-differentiated, slow-growing verrucous tumor with invasion of local structures, without distant metastases, and local metastases are uncommon.⁵

Macroscopically, both appear as warty masses, with notable papillary projections of the epithelial surface. The histological appearance of the verrucous carcinoma is of a well differentiated hyperplastic epithelial lesion. A densely keratinized surface and strongly circumscribed deep margin, often described as a "pushing border", is what characterizes these tumors.^{6, 7}

Long-term dysphonia is the most common symptom, since the glottic region was the most common site of verrucous carcinoma.

Local recurrences are common when treatment is inadequate. But its benign behavior allows conservative treatment mostly by endoscopic laser route, and selective lymph node dissection is not indicated.⁸

Clinical case

Obese patient, 50 years old, with permanent dyspnea, worse for walking and supine position. Supraclavicular and suprasternal chimney flow. Progressive dysphonia.

Background of larynx microsurgery in the year 2013 due to papillomatous right vocal cord lesion. Biopsy of the year 2013 with report of vegetative papillomatous lesion with abundant blood vessels.

In December of 2016 he consulted for dyspnea and dysphonia.

Fibrolaryngoscopy shows a lesion that occupies the entire glottis, vegetative, keratinized, papillomatous type.

In laryngeal microsurgery with C02 laser, lesion of the right vocal cord and the mucosa was resected. There wasn't invasion of the vocal ligament. The airway was permeabilized, and the patient was discharged at 5 hours.

At the control month there wasn't lesion with excellent voice and breathing quality

Biopsy reports tumor regions with papillomatous appearance and presence of verrucous carcinoma.



Fig. 1, 2,3: Right vocal with cord verrucous lesion.

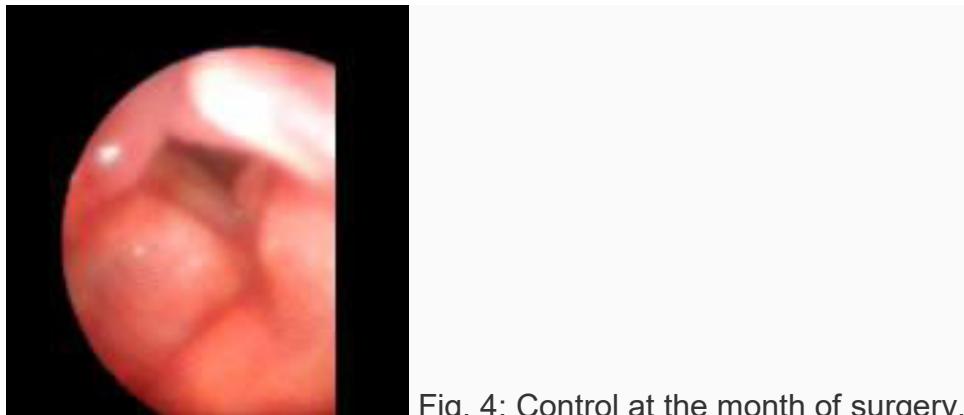


Fig. 4: Control at the month of surgery.

Discussion

Verrucous carcinoma is a form of squamous cell carcinoma with specific clinical, morphological and cytokinetic characteristics. The term verrucous carcinoma refers to those exophytic or cutaneous squamous mucous tumors that are stacked on the epithelial surface with a papillary micronodular appearance.²

Tumors originated most frequently in the oral cavity (55.9%) and larynx (35.2%). Although the majority of patients are male (60.0%), tumors of the oral cavity are more common in older women.³

Although verrucous carcinoma is related to tobacco consumption and the presence of human papillomavirus, its etiology is not yet defined.⁴

The tumor most frequently in the larynx originates in the true vocal cords. The incidence of verrucous carcinoma of the larynx is 1% to 2% of all malignant neoplasms that affect this organ, with the peak incidence between 40 and 69 years.²

The most representative symptoms of verrucous carcinoma of the larynx are dysphonia and dyspnea that increase gradually.⁹

Diagnosis Verrucous carcinoma can only be performed by biopsy, and in some cases additional biopsies are required to assess the relationship between the epithelium and the underlying stroma. In laryngoscopy, these lesions are warty and exophytic, often resulting in superficial biopsies.^{10, 11}

The histopathological features of verrucous carcinomas are described as well differentiated squamous lesions with local invasion through descending growth intrastromal invaginations containing fine fibrous vascular cords.^{12, 13}

Verrucous carcinoma exists within the histologic continuum ranging from benign squamous hyperplastic lesions to invasive squamous cell carcinoma.

Distinguishing verrucous carcinoma from these benign and malignant processes can be difficult. By definition, all verrucous carcinomas are classified as well differentiated (or Grade 1)

In order to differentiate verrucous carcinoma of keratosis, verruca vulgaris or squamous carcinoma with verrucous appearance, it is necessary to obtain deep margins of the lesion, for the detection of microscopic foci of invasive squamous carcinoma inside or adjacent to the keratosis of the lesion.

Clinically, the lesions appear as grayish, exophytic and verrucous growths that tend to grow slowly and are not associated with metastases to the regional cervical lymph nodes.¹

The clinical behavior of verrucous carcinoma can be destructive despite its deceptively benign microscopic appearance. These lesions can grow very large and can infiltrate extensively to destroy adjacent tissues including cartilage and bone. The presence of cervical lymphadenopathy is mostly due to reactive lymph node hyperplasia secondary to the inflammatory reaction at the stromal tumor interface.⁴

In 94.9% of the cases reported in the literature, the extent of the disease was only a local invasion, with little invasion of adjacent structures (4.2%), and regional metastases in only one case (0.8%). Distant metastasis was not reported in any of these cases at presentation.¹⁴

Despite their locally aggressive nature, the metastases of verrucous carcinoma are extremely rare.¹⁵

Surgery is the mainstay of treatment, achieving local control rates ranging from 77% to 100% .^{5, 10}

The use of radiotherapy as a treatment is discussed, without reaching a concomitant due to the scarce collection of clinical cases. In addition to having a partial response to treatment with radiotherapy, some papers support the possibility of anaplastic carcinoma after radiotherapy due to the presence of the human papilloma virus.¹⁵

Conclusion

Ackerman verrucous carcinomas are rare tumors. In the presence of suspected presence, the total resection of the lesion should be performed and not a superficial biopsy, to avoid a misdiagnosis of the disease. The treatment of choice is endoscopic surgery or laryngotomies, since treatment with radiotherapy would provide an adequate response and the possible transformation to anaplastic carcinoma

Reference

- 1- Ackerman LV: Verrucous carcinoma of the oral cavity. *Surgery* 1948;23:670-678.
- 2- Koch BB, Trask DK, Hoffman HT, et al. National survey of head and neck verrucous carcinoma: patterns of presentation, care, and outcome. *Cancer*. 2001;92:110-120.
- 3- Ishiyama A, Eversole LR, Ross DA, Raz Y, Kerner MM, Fu YS, et al. Papillary squamous neoplasms of the head and neck. *Laryngoscope* 1994; **104**: 1446–52.
- 4- Gissmann L, zur Hausen H: Human papilloma viruses: Physical mapping and genetic heterogeneity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976;73:1310\x=req-\\ 1313.
- 5- Varshney S, Singh J, Saxena RK, Kaushal A, Pathak VP. Verrucous carcinoma of larynx. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2004;56:54-56.
- 6- Mounts, P., Shah, K. V., and Kashima, H. Viral etiology of juvenile-onset and adult-onset squamous papilloma of the larynx. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 79: 5425â€“5429, 1982.
- 7- Steinberg, B. M., Topp, W. C., Schneider, P. S., and Abramson, A. L. Laryngeal papillomavirus infection during clinical remission. *N. Engl. J. Med.*, 308:1261â€“1264, 1983.
- 8- Dubal PM, Svider PF, Kam D, Dutta R, Baredes S, Eloy JA. Laryngeal verrucous carcinoma: a population-based analysis. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2015;153:799-805.
- 9- Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D. *Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours*. Lyon, France: IARC Press; 2005.
- 10-Ferlito A, Recher G. Ackerman's tumor (verrucous carcinoma) of the larynx: a clinicopathologic study of 77 cases. *Cancer*. 1980;46:1617-1630.
- 11-Damm M, Ecke HE, Schneider D, Arnold G. CO₂ laser surgery for verrucous carcinoma of the larynx. *Lasers Surg Med*. 1997;21:117-123.
- 12-Hyams VJ, Batsakis JG, Michaels L. Tumors of the upper respiratory tract and ear. *Atlas of Tumor Pathology*. Armed Forces Institute of Pathology. *Fascicle* 1986;**25**: 72–6.
- 13-Rosai J. *Ackerman's surgical pathology*, 8th ed. vol. 1. St. Louis: Mosby, 1996: 223–55.
- 14-Batsakis JG, Hybels R, Crissman JD, Rice DH. The pathology of head and neck tumors: verrucous carcinoma. Part 15. *Head Neck Surg* 1982;5: 29–38.
- 15-Van Nostrand AWP, Olofsson J: Verrucous carcinoma of the larynx: A clinical and pathologic study of ten cases. *Cancer* 1972;30:691-702.

LA SINDROME PFAPA

M. Siani – E. Avallone – A. Siani

La sindrome PFAPA (dall'acronimo inglese: periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis and cervical adenitis) è una entità clinica di origine infiammatoria caratterizzata da febbre periodica, associata ad almeno uno delle seguenti manifestazioni cliniche: aftosi orale, faringo-tonsilite eritematosa o essudativa e linfoadenite latero-cervicale (Marshall, 1987).

Tali episodi si distinguono dalle normali infezioni ricorrenti dei primi anni di vita per l'esordio in pieno benessere, l'assenza di chiari segni di infezione delle alte vie respiratorie, la peculiare tendenza ad una periodicità talvolta estremamente regolare, la tendenza all'auto-risoluzione con scarsa risposta alla terapia antibiotica (Thomas, 1999; Padeh, 1999; Tasher, 2006).

L'ipotesi più avvalorata è che la PFAPA rappresenti un disturbo minore dei meccanismi di controllo dell'infiammazione che si rende evidente, forse anche in relazione alla relativa ipertrofia del tessuto linfatico, solo nei primi anni di vita.

Recentemente la PFAPA è stata collocata fra le sindromi autoinfiammatorie ma, a differenze di queste ultime, la prognosi della sindrome PFAPA, è sempre buona e non vi è alcuna tendenza allo sviluppo di amiloidosi. La frequenza della sindrome PFAPA è molto più comune di quanto si possa immaginare. Attualmente si stima che la sua incidenza sia di 4 casi/10.000 bambini/anno. Essa sembra avere alla base una disregolazione del sistema immunitario caratterizzato da una continua attivazione delle citochine proinfiammatorie con la contemporanea soppressione della risposta antinfiammatoria. Interessa per lo più i primi anni di vita con una predominanza del sesso maschile. L'esordio della malattia avviene generalmente entro i 5 anni di età e si caratterizza per episodi ricorrenti di febbre elevata della durata di 3-6 giorni, con periodo intercritico regolare. Gli episodi febbrili sono in genere prontamente responsivi alla terapia steroidea per via orale..

Criteri diagnostici per la sindrome PFAPA (da Marshall et al. 1989, mod. da Thomas et al., 1999).

Episodi febbrili ricorrenti con esordio prima dei 5 anni di età

Sintomi essenziali, in assenza di infezioni delle alte vie respiratorie con almeno uno tra:

Stomatite aftosa (70%)

Linfadenite cervicale (88%)

Faringite (72%)

A queste caratteristiche potrebbe essere aggiunta anche la brillante e rapida (3-6 ore) risposta della febbre ad una unica dose di corticosteroidi.

Dal punto di vista laboratoristico si evidenzia solamente un rialzo degli indici di flogosi durante l'episodio febbrile che prontamente si negativizzano nei periodi intercritici (all'emocromo si rileva una leucocitosi lieve ed un'elevazione moderata della VES e della PCR).

Quindi nelle forme tipiche risultano inutile le indagini ematochimiche. Sul versante terapeutico possono essere usati solo cortisonici (prednisone e metilprednisone) per os. Alle dosi di 1 mg/kg die di metiprednisone o steroide equivalente per 1-2 giorni si ottiene una risposta rapida non solo sulla febbre ma anche sul benessere globale e sull'appetito del bambino, inoltre a questi dosaggi gli effetti collaterali metabolici dei corticosteroidi sono trascurabili.

Scarsa efficacia terapeutica dimostrano il paracetamolo e l'ibuprofene. Assolutamente inutile risulta la somministrazione di antibiotici. In ambito terapeutico sono presenti in letteratura studi sulla utilizzazione di cimetidina e di colchicina, quest'ultima adesso utilizzata solo nella febbre familiare mediterranea per la prevenzione della amiloidosi.

Sul versante specialistico Otorinolaringoiatrica, oltre che per la diagnosi e terapia medica, la indicazione alla tonsillectomia può essere presa in considerazione proprio quando questa gestione risulta difficoltosa, infatti essa risulta efficace nell'interrompere o ridurre drasticamente la ricorrenza febbrile nella grande maggioranza dei casi (nella casistica italiana aggiornata è risultata efficace circa nell'80%). Si può proporre quindi la tonsillectomia, anche se, data l'assenza di studi randomizzati controllati, il Piano Nazionale delle Linee Guida del Ministero della Salute non riconosce per ora questa indicazione. Infatti a tal proposito dalle Linee Guida (documento 15 del Marzo 2008) abbiamo estrapolato per la sindrome PFAPA le raccomandazioni II-V/D e VI/D .



Nei rarissimi casi in cui la somministrazione di cortisonici e la indicazioni alla tonsillectomia non siano praticabili per le coesistenti gravi patologie del piccolo paziente è consentito l'uso della anakinra (nome commerciale Kineret fiale 100mg) che è una forma ricombinante dell'IL-1Ra, un antagonista endogeno che si lega ai recettori IL-1 e inibisce gli effetti pro-infiammatori dell'IL-1. Somministrata per via sottocutanea, l'anakinra ha una biodisponibilità elevata (95%) e raggiunge livelli plasmatici massimi in 3-7 ore.

Sul versante della prevenzione si trovano in letteratura diversi lavori sulla efficacia del Pidotimod in associazione a lisato batterico nel trattamento della sindrome PFAPA.

Il messaggio che lo specialista ORL deve comunicare ai genitori dei piccoli pazienti affetti da PFAPA deve essere semplice:

- *la buona prognosi (non interferisce sulla crescita e la malattia non è cronica);*

- *l'adeguatezza delle difese immuni contro i patogeni (non è una immunodeficienza);*
- *la non contagiosità della malattia;*
- *la necessità di un trattamento solo sintomatico e non curativo*
- *una analisi semplice del rapporto tra costi e benefici delle terapie.*

Bibliografia

- Atas B, Caksen H, Arslan S, et al. PFAPA syndrome mimicking familial Mediterranean fever: report of a Turkish child. *J Emerg Med* 2003;25:383-5.
- Caorsi R, Meini A, Cattali M, et al. Low specificity of current diagnostic criteria for PFAPA syndrome Time to change? *Clin Exper Rheumatol* 2008;26:214.
- Dahn KA, Glode MP, Chan KH. Periodic fever and pharyngitis in young children: a new disease for the otolaryngologist? *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2000;126:1146-9.
- Galanakis E, Papadakis CE, Giannoussi E, et al. PFAPA syndrome in children evaluated for tonsillectomy. *Arch Dis Child* 2002;86:434-5.
- Gattorno M, Sormani MP, D'Osualdo A, et al. A diagnostic score for molecular analysis of hereditary autoinflammatory syndromes with periodic fever in children. *Arthritis Rheum* 2008;58:1823-32.
- Hofer MF. Cured by tonsillectomy: was it really a PFAPA syndrome? *J Pediatr* 2008;153:298.
- Licameli G, Jeffrey J, Luz J, et al. Effect of adenotonsillectomy in PFAPA syndrome. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2008;134:136-40.
- Parikh SR, Reiter ER, Kenna MA, et al. Utility of tonsillectomy in 2 patients with the syndrome of periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenitis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2003;129:670-3.
- Renko M, Salo E, Putto-Laurila A, et al. A randomized, controlled trial of tonsillectomy in periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and adenitis syndrome.
- Tasher D, Somekh E, Dalal I. PFAPA syndrome: new clinical aspects disclosed. *Arch. Dis Child* 2006;91:981-4.
- Tasher D, Stein M, Dalal I, et al. Colchicine prophylaxis for frequent periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis and adenitis episodes. *Acta Paediatr* 2008;97:1090-2.
- Wong KK, Finlay JC, Moxham JP. Role of Tonsillectomy in PFAPA Syndrome. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2008;134:16-9.

PFAPA SYNDROME

M. Siani , E. Avallone, A. Siani

PFAPA syndrome (Periodic Fever, Aphtous Stomatitis, Pharyngitis and cervical adenitis) is a clinical entity of inflammatory origin. It is characterized by periodic fever, with one or more of the following clinical manifestations: oral aftosis, erythematous or exudative pharyngeal tonsillitis and latero-cervical lymphadenitis .

These episodes are different from normal recurrent infectious of early life because: they show up while in full well-being state, there is absence of clear signs of high respiratory tract infection, they are characterized by regular frequency, the relative symptoms tend to disappear and they have poor response to antibiotic therapy.

The most important hypothesis is that PFAPA is a minor disorder of inflammatory control mechanism that shows up only in the early years of life also in relation to lymphatic tissue hypertrophy.

Recently, PFAPA has been classified as an autoinflammatory syndrome but the prognosis of PFAPA SYNDROME is always good and there is no tendency to amyloidosis.

The frequency of PFAPA syndrome is much more common than one can imagine. It is currently estimated that its incidence is 4 cases / 10.000 children per year.

It seems like there is an underlying disorder of the immune system characterized by a continuous activation of proinflammatory cytokines with the simultaneous suppression of the anti-inflammatory response. It shows up more frequently in the early years of life mostly in men. The disease usually occurs within the first 5 years of life and it is characterized by recurrent episodes of high fever for 3-6 days, with regular inter-critical periods. Febrile episodes are generally very responsive to oral steroid therapy.

Diagnostic criteria for PFAPA syndrome (Marshall et al. 1989, mod Thomas et al.,1999):

- **Feverish episodes with a debut before 5 years of life**
- **Essential symptoms, in the absence of high respiratory infections with at least one between:**
- **Aphtous Stomatitis (70%)**
- **Cervical adenitis (88%)**
- **Pharyngitis (72%)**

These features could also be added to the positive and quick (3-6 hours) fever response to a single dose of corticosteroids. From the laboratory point of view, only a rise in the index of flogosis occurs during the fever episode that promptly become negativized during inter-critical periods (homochromous is found to be mild leucocytosis and a moderate elevation of VES and PCR.)

Hematopoietic chemistry is therefore useless in typical forms. Only cortisone (prednisone and methylprednisolone) may be used on the therapeutic side. At doses of 1 mg / kg die of metiprednisolone or equivalent steroid for 1-2 days a rapid response is achieved not only on fever but also on overall well-being and baby's appetite, and in addition to these doses the metabolic side effects of corticosteroids are insignificant.

Paracetamol and ibuprofen have poor therapeutic efficacy. The administration of antibiotics is absolutely useless. There are studies on the use of cimetidine and colchicine that demonstrate the therapeutic ineffectiveness. The colchicine is used only for the Mediterranean family fever for the prevention of amyloidosis.

On the specialist Otorhinolaryngologist side, in addition to medical diagnosis and therapy, tonsillectomy may be considered when it is difficult to handle, since it is effective in interrupting or drastically reducing feverish recurrence in the vast majority of cases (in recent Italian case studies tonsillectomy proved effective in about 80% of the cases). Irrespective of the absence of controlled randomized trials, Tonsillectomy may be proposed anyway, even if the National Health Guidelines Plan of the Ministry of Health does not recognize this indication. In this regard, we have outlined Recommendations II-V / D and VI / D for the PFAPA syndrome (Guideline 15 of March 2008).

Raccomandazioni

II-V/D

A fronte delle deboli prove sull'efficacia della tonsillectomia nei bambini affetti da PFAPA e della tendenza alla risoluzione spontanea, si sconsiglia l'utilizzo di routine della tonsillectomia per il trattamento della sindrome.

VI/B

Nei rari casi di episodi febbrili molto frequenti e ravvicinati dovuti alla sindrome PFAPA a evoluzione non favorevole, l'effettuazione della tonsillectomia è quasi sempre risolutiva.

In very rare cases where cortisone administration and tonsillectomy are not feasible for the coexisting serious pathologies of the young patients, the use of anakinra (commercial name Kineret ampicillin 100mg) is permitted. Anakinra is a recombinant form of IL-1Ra, an endogenous antagonist that binds to IL-1 receptors and inhibits pro-inflammatory effects of IL-1. By subcutaneous administration, anakinra has a high bioavailability (95%) and reaches maximum plasma levels in 3-7 hours.

Regarding the prevention, there are a studies on the efficacy of Pidotimod in association with bacterial ligation in the treatment of PFAPA syndrome.

The message that the ORL specialist has to communicate to the parents of afflicted young patients affected by PFAPA has to be simple and clear:

- good prognosis (does not interfere with growth and the disease is not chronic);
- adequacy of immune defense against pathogens (not an immunodeficiency);
- the disease is not contagious;
- treatment is only symptomatic and does not heal;
- a simple analysis of the cost-benefit ratio of therapies.

Bibliography:

Atas B, Caksen H, Arslan S, et al. PFAPA syndrome mimicking familial Mediterranean fever: report of a Turkish child. *J Emerg Med* 2003;25:383-5.

Caorsi R, Meini A, Cattali M, et al. Low specificity of current diagnostic criteria for PFAPA syndrome Time to change? *Clin Exper Rheumatol* 2008;26:214.

Dahn KA, Glode MP, Chan KH. Periodic fever and pharyngitis in young children:a new disease for the otolaryngologist? *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2000;126:1146-9.

Galanakis E, Papadakis CE, Giannoussi E, et al. PFAPA syndrome in children evaluated for tonsillectomy. *Arch Dis Child* 2002;86:434-5.

Gattorno M, Sormani MP, D'Osualdo A, et al. A diagnostic score for molecular analysis of hereditary autoinflammatory syndromes with periodic fever in children. *Arthritis Rheum* 2008;58:1823-32. Hofer MF. Cured by tonsillectomy: was it really a PFAPA syndrome? *J Pediatr* 2008;153:298.

Licameli G, Jeffrey J, Luz J, et al. Effect of adenotonsillectomy in PFAPA syndrome. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2008;134:136-40.

Parikh SR, Reiter ER, Kenna MA, et al. Utility of tonsillectomy in 2 patients with the syndrome of periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenitis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2003;129:670-3.

Renko M, Salo E, Putto-Laurila A, et al. A randomized, controlled trial of tonsillectomy in periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and adenitis syndrome.

Tasher D, Somekh E, Dalal I. PFAPA syndrome: new clinical aspects disclosed. *Arch. Dis Child* 2006;91:981-4.

Tasher D, Stein M, Dalal I, et al. Colchicine prophylaxis for frequent periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis and adenitis episodes. *Acta Paediatr* 2008;97:1090-2.

Wong KK, Finlay JC, Moxham JP. Role of Tonsillectomy in PFAPA Syndrome. *ArchOtolaryngol Head Neck Surg* 2008;134:16-9.

La ipovitaminosi D è fattore di rischio per l'insorgenza e la recidiva della Vertigine Parossistica Benigna da posizionamento?

Luigi Califano, Francesca Salafia, Maria Grazia Melillo, Salvatore Mazzone

SSD di Audiologia e Foniatria, A.O.R.N. "Gaetano Rummo", Benevento, Italia

Corrispondenza a: Luigi Califano, SSD di Audiologia e Foniatria, A.O.R.N. "Gaetano Rummo", Via dell' Angelo 1, Benevento, Italia Telefono: +39 824 57407 Fax: +39 824 57430
Email: luigi.califano@tin.it vertigobn@hotmail.com

Key words: Vertigine Parossistica benigna da posizionamento; VPPB; Canalolitiasi; Vitamina D; Ipovitaminosi D

Riassunto.

Scopi dello studio. Verificare se: 1. Esista un'associazione tra i livelli serici della 25-OH-vitamina D e l'insorgenza della Vertigine Parossistica Benigna da Posizionamento (VPPB); 2. Ci sia una stagionalità per l'insorgenza della VPPB; 3. I livelli serici della 25-OH-vitamina D dei pazienti con VPPB siano significativamente differenti rispetto a quelli di una popolazione controllo sana, omogenea per sesso ed età; 4. I pazienti con 3 più episodi di VPPB nei precedenti 12 mesi presentino livelli di 25-OH-vitamina D significativamente differenti rispetto ai pazienti con meno di tre episodi di VPPB nello stesso periodo; 5. In caso di ipovitaminosi D, la supplementazione orale con Vitamina D3 riduca il tasso di recidiva della VPPB.

Pazienti e metodi. Da dicembre 2015 a febbraio 2016, 68 pazienti affetti da VPPB non post-traumatica ed un gruppo controllo omogeneo di 50 soggetti sani sono stati inseriti nello studio; da giugno 2016 ad agosto 2016 abbiamo incluso nello studio altri 59 pazienti affetti da VPPB ed un altro gruppo controllo omogeneo di 50 soggetti sani, nessuno dei quali inserito nel precedente arruolamento. Sia nei soggetti affetti da VPPB che nei soggetti sani è stato dosato il livello serico di 25-OH-vitamina D. In tutti i casi con ipovitaminosi, se non controindicato, è stata effettuata una supplementazione con vitamina D3 per via orale.

Risultati. Nel periodo invernale, sia il gruppo dei pazienti con VPPB che i soggetti controllo hanno molto frequentemente mostrato ipovitaminosi D, rispettivamente nell'86.8% e nell'88% dei casi, senza differenza significativa. Il valore medio di 25-OH-vitamina D era significativamente più basso nei pazienti con almeno tre episodi di VPPB nei 12 mesi precedenti rispetto ai soggetti con meno di tre recidive. Nel periodo estivo, l'ipovitaminosi D è risultata meno frequente in entrambi i gruppi, 61% e 62% rispettivamente, mentre la frequenza della VPPB non sembra essere diversa rispetto a quella del periodo invernale.

Conclusioni. L' ipovitaminosi D è un importante problema sanitario nella nostra comunità. Essa non si associa a maggiore incidenza di VPPB, ma è invece correlata positivamente con l'aumento delle recidive. In un follow up di un anno dall'inizio della supplementazione di vitamina D3, il numero delle recidive appare significativamente ridotto.

Introduzione.

La Vertigine parossistica da posizionamento benigna (VPPB) è la sindrome vertiginosa a più elevata prevalenza incidendo per oltre il 20% di tutte le sindromi vertiginose (1,2).

Nella grande maggioranza dei casi essa è ritenuta essere provocata dalla caduta di otoliti provenienti dalla macula dell'utricolo in uno o più canali semicircolari, più frequentemente il canale posteriore, (75-80 % dei casi), meno frequentemente il canale laterale (15- 20% dei casi), molto più raramente il canale anteriore (non oltre il 2-3% dei casi) (3).

La sintomatologia è caratterizzata da violente crisi vertiginose di breve durata- decine di secondi, pochi minuti- provocate da cambi di posizione nello spazio della testa e del corpo, con periodo critico che dura da pochi giorni ad un mese circa, raramente con durata maggiore. La diagnosi è possibile attraverso il riconoscimento del “nistagmo parossistico da posizionamento”, evocato attraverso le manovre diagnostiche di Dix-Hallpike per la VPPB da canalolitiasi dei canali verticali (posteriore o anteriore) (4) e di Pagnini-McClure per la VPPB da canalolitiasi laterale (Head-roll test) (5,6). Il nistagmo evocato è rotatorio con componente lineare verso l'alto per la canalolitiasi verticale, orizzontale per la canalolitiasi laterale, con le due varianti geotropa ed apogeotropa.

La VPPB è patologia dell'età matura con picco di incidenza al di sopra dei sessanta anni, mentre è rara in età giovanile e molto rara in età infantile (7). La sua frequenza è probabilmente sottostimata nell'età avanzata ed essa è ritenuta una possibile frequente causa di caduta nell'anziano (8), con aumento del rischio di fratture (9).

L'unica eziologia da considerare certa è quella posttraumatica, allorquando esista uno stretto rapporto temporale tra trauma e VPPB, mentre tutte le altre eziologie sono da considerare possibili o ipotetiche: insulto microvascolare cronico, diabete, ipertensione, ipotensione, autoimmunità, emicrania, secondarietà rispetto ad altre patologie dell'orecchio (OMPC, otosclerosi, malattia di Menière ecc.) (3).

Gli otoliti hanno una struttura calcica con un nucleo centrale glicoproteico e basso contenuto di Calcio ed una parte esterna a più elevato contenuto di Calcio, in forma di CaCO₃ (10). Fin dal 2003 (11) è stato ipotizzato un rapporto tra osteoporosi e VPPB, rapporto riproposto più recentemente anche da altri autori (12,13). E' stato anche ipotizzato un rapporto tra livello serico della 25-OH-vitamina D ed insorgenza di VPPB (14-16), essendo nota l'azione di questa vitamina sul metabolismo del Calcio ed in particolare sulla sua azione di up-regulation di proteine leganti il Calcio, la cui azione, come evidenziato in modelli animali, si realizza anche a livello dell'orecchio interno, ove sono espressi recettori della vitamina D (17) .

Obiettivi.

Verificare se:

1. esista un'associazione tra livelli serici di 25-OH-Vitamina D e VPPB;
2. ci sia una stagionalità della BPPV, confrontando il numero di VPPB osservate tra novembre 2015 e febbraio 2016 con quello osservato tra giugno 2016 ed agosto 2016;
3. se i livelli serici di 25-OH-Vitamina D della popolazione con VPPB siano significativamente differenti rispetto ad una popolazione-controllo omogenea per sesso ed età, non affetta da patologie audio-vestibolari o da patologie del metabolismo calcico;
4. se i pazienti con numero di episodi di VPPB nel corso di 12-14 mesi (da novembre 2015 a gennaio 2016) uguale o superiore a tre presentino valori serici di 25-OH-Vitamina D significativamente differenti rispetto ai soggetti non vertiginosi ed ai soggetti con massimo due episodi di VPPB durante lo stesso periodo.
5. in un follow-up di un anno, la supplementazione per via orale di Vitamina D3 riduca la frequenze delle recidive di VPPB.

Interventi.

1. Trattamento della VPPB con manovra liberatoria;
2. Supplementazione di vitamina D3 nei casi di ipovitaminosi

Pazienti e metodi. Da dicembre 2015 a febbraio 2016, un periodo temporale in cui i valori di Vitamina D serica sono uniformi (17) sono stati inseriti nello studio 68 pazienti, 40 donne e 28 uomini, di età media 60.2 +/-12.41, con diagnosi da noi effettuata di VPPB da canalolitiasi posteriore o laterale, di origine non traumatica e senza altre patologie otologiche associate. Nei dodici mesi precedenti l'osservazione, 16 di questi pazienti-10 donne, 6 uomini, con età media di 62.4 +/-10.65 anni, non significativamente differente rispetto all'intero gruppo con BPPV ($p=0.5$) ed al gruppo con solo uno o due episodi di BPPV ($p=0.4$)- avevano presentato almeno 3 episodi di VPPB, 12 avevano presentato due episodi di VPPB, per 40 l'episodio era il primo diagnosticato.

Come ulteriore parte dello studio, da giugno 2016 ad agosto 2016 abbiamo incluso nello studio altri 59 pazienti, 36 donne, 23 uomini, di età media 59.7+/- 10.41 anni, nessuno dei quali inserito nello studio nel precedente periodo, affetti da VPPB non posttraumatica da canale posteriore o laterale, e non affetti da altre patologie otologiche per confrontare la frequenza della VPPB durante un periodo con valori di Vitamina D serica probabilmente più alti (17,18).

Ai pazienti con VPPB è stato effettuato in unico laboratorio il dosaggio con metodo di chemiluminescenza della 25-OH-Vitamina D, sempre eseguito tra le 8.00 e le 9.00 a.m per minimizzare l'effetto di un eventuale ritmo circadiano.

I valori di riferimento sono raggruppati in: carenza (<10 ng/ml); insufficienza (11-30 ng/ml); normalità (31-100 ng/ml); tossicità (>100 ng/ml) (18,19). Nei calcoli, è stata da noi eseguita approssimazione all'unità più vicina.

Il dosaggio della 25-OH-Vitamina D è stato anche eseguito negli stessi periodi nello stesso laboratorio in due popolazioni-controllo omogenee di 50 soggetti, 29 donne, 21 uomini, di età media 60.3 +/- 11.27 anni ($p=0.9$), tra dicembre 2015 e febbraio 2016, e di altri 50 soggetti, 31 donne, 19 uomini, età media 60.9 +/- 10.27 anni ($p=0.95$), non affette da patologie audiovestibolari o del metabolismo del calcio.

In assenza di controindicazioni all'uso della Vitamina D, abbiamo prescritto in tutti i casi di ipovitaminosi D, sia ai pazienti affetti da VPPB che a quelli dei gruppi-controllo, colecalciferolo (Vitamina D3) per os, da 10000 a 50000 UI/ml la settimana, in relazione ai dati di laboratorio, con il limite annuale di 600000 UI.

Un follow-up di un anno è stato condotto per i "pazienti invernali" per valutare se la supplementazione di Vitamina D3 riducesse la frequenza delle recidive di VPPB nei pazienti ad alto tasso di recidiva (tre o più episodi nei 12 mesi precedenti) A questo scopo, i pazienti sono stati invitati a visita di controllo immediata in caso di recidiva dei sintomi vertiginosi.

La valutazione statistica è stata eseguita con Unpaired t test (confronto dei valori di 25-OH-Vitamina D nei vari gruppi e delle età), Fisher's exact test (confronto tra l'incidenza delle classi funzionali dei valori di 25-OH-Vitamina D nei diversi gruppi) e test di Grubbs per la identificazione di outlier sia nella popolazione con BPPV che nella popolazione controllo.

Risultati.

A. "*Pazienti invernali*". Nella popolazione con VPPB una situazione di carenza di 25-OH-Vitamina D è stata riscontrata in 25/68 casi (36.8%); di insufficienza in 34/68 casi (50%); di normalità (31-100 ng/ml) in 9/68 casi (13.2%); complessivamente ipovitaminosi D è stata riscontrata in 59/68 casi (86.8%). Il valore medio di 25-OH-Vitamina D è stato di 18.2 +/- 10.43 ng/ml, con presenza di un "outlier" con valore di 58 ng/ml.

Nella subpopolazione di 16 pazienti con almeno 3 episodi di BPPV nell'ultimo anno sono state riscontrate in tutti i casi situazioni di carenza (10 casi) o insufficienza (6 casi) di 25-OH-Vitamina D, con valore medio di 11.63 +/- 6.16 ng/ml vs. 20.38 +/- 10.73 del gruppo di BPPV senza plurirecidive ($p=0.003$).

Nel gruppo di controllo una situazione di carenza di 25-OH-Vitamina D è stata riscontrata

in 17/50 casi (34%); di insufficienza in 27/50 casi (54%); di normalità in 6/50 casi (12%); complessivamente ipovitaminosi D è stata riscontrata in 44/50 casi (88%). La differenza nella frequenza della ipovitaminosi D nei due gruppi non è significativa ($p=0.9$). Il valore medio di 25-OH-Vitamina D è stato di 15.61 ± 9.87 ng/ml, senza outlier, senza differenza significativa rispetto al gruppo con VPPB ($p=0.21$). Il valore medio del gruppo di controllo è addirittura significativamente più basso rispetto a quello del sottogruppo di 52 VPPB non frequentemente recidivanti ($p=0.03$).

B. *"Pazienti estivi"*. Nel gruppo con BPPV, ipovitaminosi D è stata riscontrata in 36/59 casi (61%), carenza in 5/59 casi (8.4%), insufficienza in 31/59 casi (52.5%), un valore normale in 23/59 casi (39%). Il valore medio della 25-OH-Vitamina D serica è stato di 24.4 ± 10.69 ng/ml, con la presenza di un outlier con un valore di 67 ng/ml.

Nel gruppo di controllo, ipovitaminosi D è stata riscontrata in 31/62 casi (50%), carenza in 5/50 casi (10%), insufficienza in 26/50 casi (52%), con valori di normalità in 19/50 casi (38%). Il valore medio della OH-Vitamina D serica nel gruppo di controllo è stato di 25.6 ± 10.45 ng/ml, con la presenza di un outlier (78 ng/ml). Le differenze con il gruppo della VPPB non sono significative: $p=0.16$ per il valore medio di 25-OH-Vitamina D serica e $p=0.8$ per la frequenza della condizione di ipovitaminosi D.

I casi di VPPB osservati nei due periodi, invernale ed estivo, sono simili (68 vs 59), con una frequenza relativa rispetto a tutte le visite vestibolari eseguite presso la nostra Struttura rispettivamente del 23.4% e del 24.1%.

Le differenze sia tra i valori di 25-OH Vitamina D che tra le frequenze della ipovitaminosi D sono significative tra il periodo invernale e quello estivo, sia nel gruppo con VPPB (rispettivamente: $p= 0.02$ e $p= 0.007$) che nei gruppi di controllo ($p= 0.003$ e $p= 0.001$), con un valore medio di 25-OH vitamina D più alto ed una minore frequenza di ipovitaminosi nel periodo estivo.

Follow-up ad un anno dall'inizio della supplementazione di Vitamina D. Nell'anno precedente, avevamo osservato 74 recidive di BPPV, 62 delle quali dal gruppo frequentemente recidivante (16 pazienti, tutti con ipovitaminosi D), 12 dal gruppo non frequentemente recidivante (12 pazienti, 10 dei quali con ipovitaminosi D). Dopo la supplementazione orale di Vitamina D3, nei 12 mesi successivi abbiamo osservato 14 recidive in 13 pazienti, 7 nel gruppo frequentemente recidivante (due recidive nello stesso paziente), 3 nel gruppo non frequentemente recidivante, 4 in pazienti che nell'anno precedente non avevano avuto recidive. Al momento della recidiva, il livello di 25-OH-Vitamina D era normale in 10 casi, basso in altri 3 (< 20 ng/ml). Il numero delle recidive osservate è stato significativamente più basso rispetto al numero atteso ($p<0.001$).

Discussione.

Il termine Vitamina D è utilizzato per un gruppo di composti (secosteroidi) di cui hanno attività biologica la vitamina D₂, o ergocalciferolo, derivata per fotolisi dallo sterolo vegetale ergosterolo assumibile per via alimentare, e la vitamina D₃, o colecalciferolo, derivata nella cute umana per irradiazione UV dello sterolo animale 7-deidrocolesterolo. Nell'organismo la vitamina D è biologicamente attivata da due processi chimici di idrossilazione: il primo, nel fegato genera la 25-OH-vitamina D ed il secondo, nel rene, genera la 1,25-OH-vitamina D o calcitriolo. La forma attiva della vitamina D. La concentrazione serica di 25-OH-vitamina D è ritenuta il miglior indicatore clinico della riserva di vitamina biodisponibile, con un valore soglia di ipovitaminosi posto a 30 ng/ml (18,19). Vari studi hanno evidenziato una relazione tra i livelli di 25-OH-vitamina D e valori di densità minerale ossea (20), rischio di caduta e di fratture, eventi cardio-vascolari, neoplasie (specie colon, mammella e prostata), sindromi depressive, diabete, sclerosi multipla ed altre ancora (21). I livelli di 25-OH-vitamina D serica sono variabili nel corso dell'anno in relazione alla esposizione all'irradiazione solare, con abbassamento progressivo dei valori da settembre a marzo, mese in cui è toccato il picco minimo (22). La

frequenza della ipovitaminosi D aumenta con l'età; in varie aree geografiche i valori di 25-OH vitamina D sono frequentemente al di sotto della soglia per l'ipovitaminosi (30 ng/ml) (15,19). La condizione carenzia interessa la quasi totalità della popolazione anziana italiana che non assuma supplementi di vitamina D, ma l'insufficienza di vitamina D interessa in Italia anche circa il 50% dei giovani nei mesi invernali (19,23-25).

L'ipovitaminosi D sembra essere un importante problema di sanità pubblica, specie nell'anziano. Infatti la sua supplementazione è consigliata fino al raggiungimento di un valore posto almeno a 30-40 ng/ml (15,19).

La quota inorganica costituente gli otoliti è di natura calcica per cui è verosimile che il metabolismo otolitico sia in qualche modo influenzato dai livelli di 25-OH-vitamina D, ormone coinvolto nel metabolismo del calcio.

Nel 2003 Vibert (11) rilevò una significativa associazione tra osteoporosi e VPPB in 32 donne. Egli propose due possibili meccanismi: la diminuzione dei livelli di estrogeno potrebbe determinare alterazione strutturale degli otoconi e della loro adesione alla matrice gelatinosa oppure l'aumento di riassorbimento di Calcio provocherebbe un aumento del calcio libero nell'endolinfa con conseguente diminuzione del riassorbimento di frammenti otolitici liberi nei canali semicircolari. Uno studio successivo di Walther confermò questo possibile meccanismo (26). Nel 2009 Jeong (12) ha evidenziato un rapporto tra Bone-Mineral Density e VPPB sia in uomini che in donne, sottolineando ancora una volta il rapporto possibile tra metabolismo sistematico del calcio ed il metabolismo degli otoliti mentre, solo più recentemente (14-16), è stata mostrato un possibile rapporto tra i valori serici di 25-OH-Vitamina D e VPPB.

Nel complesso della popolazione da noi esaminata, 68 pazienti affetti da VPPB e 50 soggetti sani non affetti da patologia audiovestibolare e neurologica, una ipovitaminosi D è stata riscontrata in 103/118 casi (87.3%), con carenza (<10 ng/ml) in 42/118 casi (35.6%) ed insufficienza (11-30 ng/ml) in 61/118 casi (51.7%); il valore medio di 25-OH-Vitamina D di 17.1 ng/ml è stato ben al di sotto di quello minimo raccomandato di 30 ng/ml. Questo dato ci sembra di per sé evidenziare un problema di rilevante importanza sanitaria, almeno nella nostra area geografica (Sannio) e nel periodo invernale.

Confrontando i due gruppi, non sono presenti differenze significative né per la distribuzione degli stati di carenza ed insufficienza (42/50 nel gruppo controllo e 61/68 nel gruppo della BPPV, p= 0.9), né per il valore medio di 25-OH-Vitamina D (15.61 ng/ml nel gruppo-controllo vs 18.2 ng/ml nel gruppo con VPPB, p =0.21). Il valore medio del gruppo controllo è addirittura significativamente inferiore rispetto a quello del sottogruppo di BPPV senza plurirecidive (p= 0.03). Suddividendo il gruppo della VPPB in due sottogruppi, quello dei 52 pazienti con uno-due episodi di VPPB nell'ultimo anno e quello dei 16 pazienti con tre o più episodi di VPPB nello stesso periodo, si evidenzia che nel gruppo plurirecidivante sono state riscontrate in tutti i casi situazioni o di carenza (10 casi) o di insufficienza (6 casi), con valore medio di 25-OH-Vitamina D significativamente più basso rispetto al sottogruppo di BPPV senza plurirecidive (p=0.003).

Nel periodo estivo, da giugno ad agosto, il valore medio di 25-OH Vitamina D serica è stato significativamente più alto rispetto a quello del periodo invernale, e l'incidenza della ipovitaminosi D più bassa. Ciononostante, il valore medio di 25-OH-Vitamina D in 59 pazienti affetti da BPPV e 50 controlli era in ogni caso al di sotto del valore soglia consigliato di 30 ng/ml, mentre la frequenza osservata di VPPB nei due periodi non è apparsa diversa.

I nostri dati sembrano quindi evidenziare che, almeno nelle condizioni spazio-temporali specifiche della nostra analisi, la ipovitaminosi D, sia come frequenza, sia come valore medio della 25-OH-Vitamina D serica, non costituisca fattore di rischio isolato per lo sviluppo della VPPB, mentre tali parametri sembrano essere entrambi correlati con l'aumento delle frequenze delle recidive, con significatività statistica per i valori serici della 25-OH-Vitamina D che sono più bassi nei soggetti con molte recidive.

Nel rispetto dei consigli della letteratura, abbiamo prescritto la supplementazione di Vitamina D in tutti i casi di ipovitaminosi, sia nei pazienti con VPPB sia nella popolazione-controllo, in assenza di controindicazioni all'uso della Vitamina D, come la nefrolitiasi. E' stata utilizzato il colecalciferolo (vit D3) per via orale, in concentrazioni da 10.000 a 50.000 U.I./ml, in relazione ai dati di laboratorio, ricontrollando il valore di 25-OH-Vitamina D dopo tre mesi di terapia, e con il limite complessivo di 600.000 UI in un anno.

Tutti i pazienti con VPPB sono stati invitati a presentarsi a controllo in caso di recidiva della vertigine durante la fase acuta della malattia allo scopo di valutare, nell'anno successivo all'inserimento nello studio, la frequenza delle eventuali recidine di VPPB ed i livelli di 25-OH-Vitamina D. I nostri risultati mostrano una significativa riduzione del numero delle recidine sia nel gruppo plurecidivante che nei pazienti non frequentemente recidivanti nell'anno precedente, come già altri autori hanno riportato (11,27), mentre la supplementazione di Vitamina D3 si è mostrata capace di correggere l'ipovitaminosi in 10/13 casi riosservati a causa di una recidiva della VPPB.

Conclusioni.

1. L'ipovitaminosi D, in un'area geografica interna del Sud Italia (Sannio), nel periodo tra dicembre e febbraio costituisce un rilevante problema sanitario in età medio-avanzata, come altri autori hanno mostrato anche in differenti aree geografiche (14-16, 18).
2. I nostri dati confermano l'aumento medio dei valori di 25-OH vitamina D serica nei mesi estivi.
3. L'ipovitaminosi D non appare, come fattore isolato, determinare aumento della frequenza della VPPB.
4. L'ipovitaminosi D, invece, appare fattore significativamente associato all'aumento della frequenza delle recidine multiple di VPPB, indipendentemente dal sesso e dall'età.
5. La supplementazione di Vitamina D3, oltre che correggere l'ipovitaminosi, ha effetto nella riduzione della frequenza degli episodi di BPPV.

Gli autori non dichiarano alcun conflitto di interesse

Bibliografia

1. Brandt T: Positional and positioning vertigo and nystagmus. J Neurol Sci 1990;95: 3-28.
2. Honrubia V, Baloh RW, Harris MR, et al.: Paroxysmal positional vertigo syndrome. Am J Otol 1999; 20:465- 70.
3. Korres S, Balatsouras DG, Kaberos A, et al. : Occurrence of semicircular canal involvement in benign paroxysmal positional vertigo. Otol Neurotol 2002; 23:926- 32.
4. Dix MT, Hallpike CS: The pathology, symptomatology and diagnosis of certain common disorders of the vestibular system. Ann Otol Rhinol Laryngol 1952; 61:987- 1016.
5. Cipparrone L, Corridi G, Pagnini P: Cupulolitiasi; In V Giornata Italiana di Nistagmografia Clinica. Nistagmografia e patologia vestibolare periferica. Milano, CSS Boots-Formenti; 1985, pp. 36-53.
6. McClure J: Horizontal canal BPV. J Otolaryngol 1985;14:30- 35.
7. von Brevern M, Radtke A, Lezius F, et al.: Epidemiology of benign paroxysmal positional vertigo: a population based study. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2007;78:710–715. doi: 10.1136/jnnp.2006.100420

8. Gananca FF, Gazzola JM, Gananca CF, et al.: Elderly falls associated with benign paroxysmal positional vertigo. *Braz J Otorhinolaryngol* 2010 Jan-Feb;76(1):113-20.
9. Liao WL, Chang TP, Chen HJ, et al.: Benign paroxysmal positional vertigo is associated with an increased risk of fracture: a population-based cohort study. *J Orthop Sports Phys Ther.* 2015 May; 45 (5): 406-12. doi: 10.2519 / jospt.2015.5707. Epub 2015 March 26.
10. Lundberg YW, Zhao X, Yamoah EN: Assembly of the otoconia complex to the macular sensory epithelium of the vestibule. *Brain Res.* 2006; 1091:47–57.
11. Vibert D, Kompis M, Hausler R: Benign paroxysmal positional vertigo in older women may be related to osteoporosis and osteopenia. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2003; 112:885–889.
12. Jeong SH, Choi SH, Kim JY, et al.: Osteopenia and osteoporosis in idiopathic benign positional vertigo. *Neurology.* 2009; 72:1069–1076.
13. Kim SY, Han SH, Kim YH, et al.: Clinical features of recurrence and osteoporotic changes in benign paroxysmal positional vertigo. *Auris nasus larynx* 2016 Jul 13. pii: S0385-8146(16)30187-0. doi: 10.1016/j.anl.2016.06.006
14. Jeong SH, Kim JS, Shin JW, et al.: Decreased serum vitamin D in idiopathic benign paroxysmal positional vertigo. *J Neurol.* 2013 Mar;260(3):832-8. doi: 10.1007/s00415-012-6712-2.
15. Büki B, Ecker M, Jünger H, et al.: Vitamin D deficiency and benign paroxysmal positioning vertigo. *Med Hypotheses.* 2013 February ; 80(2): 201–204. doi: 10.1016/j.mehy. 2012.11.029
16. Talaat HS, Abuhadied G, Talaat AS, et al.: Low bone mineral density and vitamin D deficiency in patients with benign positional paroxysmal vertigo. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2015 Sep;272(9):2249-53. doi: 10.1007/s00405-014-3175-3. Epub 2014 Jun 29.
17. Zou J, Minasyan A, Keisala T, et al.: Progressive hearing loss in mice with a mutated vitamin D receptor gene. *Audiol Neurotol.* 2008; 13(4):219-30. doi: 10.1159/000115431
18. Holick MF: Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357: 266-81.
19. Adami S, Romagnoli E, Carnevale V, et al.: Linee guida su prevenzione e trattamento dell'ipovitaminosi D con colecalciferolo. Guidelines on prevention and treatment of vitamin D deficiency. *Reumatismo,* 2011; 63 (3): 129-147.
20. Wu J, Shang DP, Yang S, et al.: Association between the vitamin D receptor gene polymorphism and osteoporosis. *Biomed Rep.* 2016 Aug;5(2):233-236. Epub 2016 May 31.
21. Thacher TD, Clarke BL: Vitamin D insufficiency. *Mayo Clin Proc.* 2011; 86:50–60.
22. Wehr E, Pilz S, Boehm BO, et al.: Association of vitamin D status with serum androgen levels in men. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2010 Aug;73(2):243-8. doi: 10.1111/j.1365-

2265.2009.03777.x.

23. Isaia G, Giorgino R., Rini G.B, et al.: Prevalence of hypovitaminosis D in elderly women in Italy: clinical consequences and risk factors. *Osteoporos Int* 2003; 14(7): 577-82.
24. Carnevale V, Modoni S, Pileri M, et al.: Longitudinal evaluation of vitamin D status in healthy subjects from southern Italy: seasonal and gender differences. *Osteoporos Int* 2001; 12: 1026-30.
25. Maggio D, Cherubini A, Lauretani F, et al.: 25(OH) D serum levels decline with age earlier in women than in men and less efficiently prevent compensatory hyperparathyroidism in older adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2005; 60: 1414-9.
26. Walther LE, Blodow A, Buder J, et al.: Principles of Calcite Dissolution in Human and Artificial Otoconia. *PLoS One* 2014; 9(7): e102516.doi:10.1371/journal.pone.0102516.
27. Tallat HS, Kabel AM, Khaliel LH, et al.: Reduction of recurrence rate of benign paroxysmal positional vertigo by treatment of severe vitamin D deficiency. *Auris Nasus Larynx* 2016 Jun;43(3):237-41. doi: 10.1016/j.anl.2015.08.009. Epub 2015 Sep 16.

Is hypovitaminosis D a risk factor for either the onset or the recurrence of Benign Paroxysmal Positional Vertigo?

Luigi Califano, Francesca Salafia, Maria Grazia Melillo, Salvatore Mazzone

Department of Audiology and Phoniatrics, "Gaetano Rummo" Hospital, Benevento, Italy

Address all correspondence to: Luigi Califano, Department of Audiology and Phoniatrics, Gaetano Rummo Hospital, Benevento, Italy Telephone: +39 824 57407 Fax: +39 824 57430

Email: luigi.califano@tin.it vertigobn@hotmail.com

Key words: Benign Paroxysmal Positional Vertigo; BPPV; Canalolithiasis; Vitamin D; Hypovitaminosis D

Abstract.

Aims of the study. To check if: 1. There is an association between serum levels of vitamin D and BPPV; 2. There is a seasonality of BPVV; 3. Serum levels of 25-OH vitamin D of the BPPV patients are significantly different if compared to a healthy control group homogeneous by gender and age; 4. Patients with > 3 episodes of BPPV in the previous 12 months presented 25-OH vitamin D levels significantly different if compared to the patients with < 3 episodes of BPPV during the same period; 5. In case of hypovitaminosis D, the supplementation of vitamin D3 reduced the recurrence rate of BPPV in a one-year follow-up.

Patients and Methods. From December 2015 to February 2016, 68 patients affected by non-traumatic BPPV and a homogeneous control group of 50 individuals were included in the study; from June 2015 to August 2015 we included in the study other 59 BPPV patients and another homogeneous control group of 50 individuals, none of them included in the study during the previous period. In both patient groups and control groups the dosage of 25-OH vitamin D was performed. In all the cases of hypovitaminosis D, an oral supplementation of vitamin D3 was prescribed.

Results. In the winter period, both the patient group and the control group presented hypovitaminosis D very frequently -86.8% and 88%, respectively-, with no significant difference between them; the mean value of 25-OH vitamin D was significantly lower in the subgroup of BPPV patients with > 3 acute episodes in the previous year. In the summer period, hypovitaminosis D was less frequent in both the groups- 61% and 62% respectively- whereas the frequency of BPPV seems to be not different respect the winter period.

Conclusions. Hypovitaminosis D is a major health problem in our community. It is not related to a higher incidence of BPPV, whereas the lowest values of 25-OH vitamin D are related to the highest incidence of recurrences. In a one year follow up, the supplementation of vitamin D3 was able to reduce the number of BPPV recurrences.

Introduction. Benign Paroxysmal Positional Vertigo (BPPV) represents more than 20% of all vertiginous syndromes [1,2]. It is usually caused by free-floating otoconia dislodged from the utricle in the semicircular canals (*canalolithiasis*) or by otoconia adherent to the cupula of a semicircular canal (*cupulolithiasis*). Posterior canal is involved in 75-85% of the cases; lateral canal is involved in 15-20%, whereas anterior canalolithiasis is the rarest form (2-3%) [3].

BPPV is characterized by recurrent short-lasting episodes of vertigo when the patient changes his/her position; the critical period usually lasts from few days to one month, seldom its duration is longer. Diagnosis is based on the presence of positional and paroxysmal nystagmus evoked through the Dix-Hallpike diagnostic test for vertical canals BPPV [4], as well as through the Pagnini-McClure test (Head-rolling test) for lateral canal BPPV [5,6]. Nystagmus is rotatory with linear upward or downward component for the vertical canal BPPV, horizontal, geotropic or apogeotropic, for the lateral canal BPPV. BPPV is more frequent in the elderly, with a maximum incidence in people > 60 years; it is rare in the younger age and very rare in the childhood [7]. Its frequency is considered a common cause of falling [8], with increased risk of fractures [9] in the elderly. A recent cranial trauma is considered the only certain cause, whereas diabetes, hypotension, autoimmunity, migraine, or other ear diseases (chronic otitis media, otosclerosis, and Menière's disease) are only putative causes or facilitating factors [3].

Otoconia have a glycoproteic central core with a low level of calcium and a peripheral zone with a higher level of calcium carbonate [10]. Connections between osteoporosis and

BPPV were hypothesized in 2003 [11] and proposed again by Jeong in 2009 [12] and Kim in 2016 [13]. A relationship between 25-OH vitamin D serum levels and BPPV has been hypothesized by some Authors [14-16].

Aims of the study. Check if: 1. There is an association between serum levels of 25-OH vitamin D and BPPV; 2. there is a seasonality of BPVV, comparing the number of BPPV observed from November 2015 to February 2016 to those observed from June 2016 to August 2016. 3. Serum levels of 25-OH vitamin D of the population with BPPV are significantly different if compared to a population homogeneous by gender and age, suffering neither from audiological and vestibular disorders nor from calcium metabolism disorders; 4. patients with three or more episodes of BPPV in the previous 12 months- from December 2014 to November 2015- presented 25-OH vitamin D serum levels significantly different if compared to the control population and to the patients with less than three episodes of BPPV during the same period; 5. In a one year follow-up, the supplementation of vitamin D reduces the recurrence rate of BPPV.

Interventions. 1. BPPV treatment through a repositioning maneuver. 2. Vitamin D supplementation in cases of hypovitaminosis.

Patients and methods. From December 2015 to February 2016, a seasonal period in which the values of 25-OH vitamin D are uniform [17], 68 patients, 40 women and 28 men, mean age 60.2 +/- 12.41 years, affected by non-traumatic posterior or lateral canal BPPV, and without other otologic diseases, were included in the study. In the 12 months preceding the observation, a subgroup of 16 patients -10 women, 6 men, mean age 62.4 +/- 10.65 years, not significantly different compared to the whole BPPV group ($p=0.5$) and to the subgroup of 52 patients with less than three episodes of BPPV ($p=0.4$) – had experienced at least three episodes of BPPV; 12 patients had presented two episodes of BPPV, 40 patients just one episode. As an accessory part of the study, from June 2016 to August 2016 we included in the study other 59 patients- 36 women and 23 men-, mean age 59.7 +/- 10.41 years, none of them included in the study during the previous period, affected by non-traumatic posterior or lateral canal BPPV, and without other otologic diseases, to compare the frequency of BPPV in a period of low values of 25-OH vitamin D (December-February) with its frequency during a period with probably higher values of 25-OH vitamin D (June-August) [17,18]. The 25-OH vitamin D dosage was also performed in the same periods in the same laboratory in two homogeneous groups of respectively 50 subjects, 29 females and 21 males, mean age 60.3 +/- 11.27 years ($p=0.9$) from December 2015 to February 2016, and of 50 subjects, 31 females and 19 males, mean age 60.9 +/- 10.27 years ($p=0.95$) from June 2016 to August 2016, both suffering neither from audiological and vestibular diseases nor from calcium metabolism diseases. The 25-OH vitamin D dosage was dosed by chemiluminescence in the same laboratory in all the patients, always within 8.00 and 9.00 a.m. to minimize a possible circadian rhythm effect. Its values were grouped into: deficiency (< 10 ng / ml); insufficiency (11-30 ng / ml); normality (31-100 ng/ml); toxicity (> 100 ng / ml) [18,19]. In absence of contraindications to the use of vitamin D, we prescribed vitamin D supplementation in all the cases of hypovitaminosis, both in patients with BPPV and in the population-control. We used cholecalciferol (vitamin D3) *per os*, from 10.000 to 50.000 IU, weekly, in relation to the laboratory data, with the overall limit of 600.000 IU in a year.

A one year follow-up was conducted for the “winter patients” to observe if the supplementation of vitamin D3 reduced the recurrence rate of BPPV in the most frequently relapsing BPPV patients – 3 or more recurrences during the previous year-. For this purpose, patients were invited to a new visit in case of onset of symptoms related to a possible positional vertigo.

The statistical analysis was performed with the unpaired t-test (comparison of the values of 25-OH vitamin D and of the age in the various groups), Fisher's exact test (comparison between the incidence of functional classes of the value of 25-OH vitamin D in the different groups) and Grubbs' test to detect outliers in both the BPPV population and the control group.

Results. A. *“Winter cases”*. In the BPPV group, hypovitaminosis D was found in 59/68 cases (86.8%) -deficiency in 25/68 cases (36.8%); insufficiency in 34/68 cases (50%)-; a normal value in 9/68 cases (13.2%). The mean value of 25-OH vitamin D was 18.2 +/- 10.43 ng/ml, with the presence of one outlier with a value of 58 ng/ml.

In the subpopulation of 16 patients with at least three episodes of BPPV during the previous 12 months, we found either a deficiency -10 cases- or an insufficiency -6 cases- of 25-OH vitamin D, with a mean value of 11.63 +/- 6.16 ng/ml vs. 20.38 +/- 10.73 ng/ml in the group of BPPV patients with less than three acute episodes during the same period. The difference is statistically significant ($p=0.003$).

In the control group, hypovitaminosis D was found in 44/50 cases (88%) - deficiency in 17/50 cases (34%), insufficiency in 27/50 cases (54%)-, a normal value in 6/50 cases (12%).

The difference of hypovitaminosis D frequency between the two groups is not significant ($p = 0.9$). The mean value of 25-OH vitamin D in the control group was 15.61 +/- 9.87 ng /ml, with no outlier. The difference with the BPPV group was not significant ($p = 0.21$).The mean value of the control group is even significantly lower than that of the subgroup of 52 BPPV patients not frequently relapsing ($p= 0.03$).

B. *“Summer cases”*. In the BPPV group, hypovitaminosis D was found in 36/59 cases (61%) -deficiency in 5/59 cases (8.4%); insufficiency in 31/59 cases (52.5%)-, a normal value in 23/59 cases (39%). The mean value of 25-OH vitamin D was 24.4 +/- 10.69 ng/ml, with the presence of one outlier (67 ng/ml).

In the control group, hypovitaminosis D was found in 31/50 cases (62%) - deficiency in 5/50 cases (10%), insufficiency in 26/50 cases (52%) -, a normal value in 19/50 cases (38%). The mean value of 25-OH vitamin D in the control group was 25.6 +/- 10.45 ng /ml, with the presence of one outlier (78 ng/ml). Differences with the BPPV group were not significant - $p=0.16$ for the mean value of vitamin D and $p=0.8$ for the frequency of hypovitaminosis-.

The cases of BPPV observed during winter and summer periods were similar (68 vs.59);; the ratio respect to the overall vestibular examinations of our Center was respectively 23.4% and 24.1%.

Differences of both 25-OH vitamin D values and incidence of hypovitaminosis D during winter and summer were significant, either in the BPPV groups ($p=0.02$; $p=0.007$) and in the control groups ($p= 0.03$; $p=0.001$), with a higher mean value of 25-OH vitamin D and a lower incidence of hypovitaminosis during the summer period.

One year follow-up from the beginning of the supplementation of vitamin D3. During the previous year we had observed 74 recurrences, 62 from the more frequently relapsing subgroup (16 patients, all with hypovitaminosis D), 12 from the less frequently relapsing subgroup (12 patients, 10 with hypovitaminosis D). After the oral supplementation of vitamin D3 in all the cases of hypovitaminosis, during the one year follow-up we observed 14 recurrences in 13 patients, 7 in the most frequently relapsing subgroup (two recurrences occurred in the same patient), 3 in the less frequently relapsing subgroup, 4 in the previously not relapsing patients. At the moment of the recurrence, the 25-OH vitamin D value was normal in 10 cases (> 30 ng/ml), low in 3 patients (< 20 ng/ml). The number of the observed recurrences was significantly lower than their expected number ($p<0.001$).

Discussion. Otoconia have a calcic inorganic part, so it is likely that their metabolism is influenced by the vitamin D levels. Vitamin D is implicated in calcium metabolism and in particular in calcium ligand proteins up-regulation; as shown in animal models, its action is also realized in the inner ear, where vitamin D receptors are expressed [17]. 25-OH vitamin D serum concentration is considered the best clinical indicator of bioavailable vitamin D reserves, with a threshold value for hypovitaminosis placed to 30 ng/ml [18,19]. Various studies have found a relationship between the levels of 25-OH vitamin D and bone mineral densities [20], risk of falls and fractures, cardiovascular events, cancer (especially colon, breast and prostate), depressive syndromes, diabetes, multiple sclerosis and others [21]. The vitamin D serum levels are variable during the year in relation to solar radiation exposure, with progressive lowering of its values from September to March, when the minimum peak is reached [22]. The frequency of hypovitaminosis D increases with age; in different geographic areas the 25-OH vitamin D values are frequently below the threshold value of hypovitaminosis (30 ng/ml) [15,19], with increment of all the risks associated with hypovitaminosis D (rickets, bone demineralization, neuromuscular impairment, falls and fractures). Most of the Italian elderly population who does not take oral supplements of vitamin D presents hypovitaminosis, but in Italy vitamin D insufficiency also affects about 50% of young people in the winter months [19, 23-25]. Hypovitaminosis D seems to be a major health problem, especially in the elderly. In fact, the supplementation of vitamin D is recommended to reach a target range of at least 30-40 ng / ml [15,19].

In 2003 Vibert [11] detected a significant association between osteoporosis and BPPV in 32 women. He proposed two possible mechanisms: the estrogen level decrease may cause a structural alteration of otoconia worsening their adhesion to the gelatinous matrix; the increase of free calcium in endolymph reduces the normal reabsorption of free-floating otoconia in the semicircular canals. A successive study by Walther confirmed the last mechanism [26]. In 2009 Jeong [12] showed a relationship between Bone-Mineral Density and BPPV in both men and women; more recently [14-16] a possible relationship between 25-OH vitamin D serum values and BPPV was shown.

In our study, in 68 patients with BPPV and in 50 healthy individuals not suffering from

audiological, vestibular and neurological diseases, on the whole, hypovitaminosis D was found in 103/118 cases (87.3%) -deficiency in 42/118 cases (35.6%) and insufficiency in 61/118 cases (51.7%)-; the mean value of 25-OH vitamin D of 17.1 ng/ml was below the recommended minimum value of 30 ng/ml. This situation, independently from BPPV, seems in and of itself a major health problem, at least in our geographical area -Southern Italy, Sannio- and in the winter time.

Comparing the control group and the BPPV group, there were no significant differences both in the distribution of the conditions of deficiency and insufficiency (respectively 42/50 and 61/68 in the control group and in the BPPV group, p=0.9), and in the mean 25-OH vitamin D value (15.61 ng/ml in the control group vs. 18.2 ng/ml in the BPPV group, p = 0.21). The mean value in the control group is even significantly lower than in the subgroup of BPPV with less than three relapses in the last year (p=0.03). Subdividing the BPPV group into two subgroups -52 patients with less than three episodes of BPPV in the last year and 16 patients with three or more episodes of BPPV in the same period- it has to be noted that in the more frequently relapsing patients, insufficiency (10 cases) and deficiency (6 cases) were always found, with a mean value of 25-OH vitamin D significantly lower respect to the subgroup of BPPV patients less frequently relapsing (p= 0.003).

During the Summer period (from June to August) the mean value of vitamin D was significantly higher than the mean value observed during the Winter period, and the incidence of hypovitaminosis D was lower than in Winter, but the overall mean value of 25-OH vitamin D in 59 patients and in 50 healthy subjects was anyway below the recommended threshold of 30 ng/ml, whereas the observed frequency of BPPV was similar to that of the Winter period.

Our data highlighted that hypovitaminosis D, both as frequency and as mean value of 25-OH vitamin D, is not a factor risk for BPPV onset, but it is correlated with the increase of the frequency of relapses, with serum values of 25-OH vitamin D significantly lower in the more frequently relapsing subgroup.

All patients with BPPV were invited to a new visit in every case of recurrence of a positional vertigo, in order to assess during the year after the insertion in the study the frequency of BPPV recurrences and the 25-OH-vitamin D levels after its supplementation. Our results show a significant reduction of the number of recurrences either in the most frequently relapsing subgroup and in the less frequently or not previously relapsing subgroup, as other Authors reported [11,27], whereas the supplementation of vitamin D3 was able to correct hypovitaminosis in 10/13 patients again observed because a recurrence of BPPV.

Conclusions

1. In a Southern Italy area –Sannio-, during the winter time, hypovitaminosis D is a critical health problem, as other authors demonstrated even in different areas [14-16,18].
2. Our data confirmed the increase of vitamin D values in the summer.

2. Hypovitaminosis D, as an isolated factor, does not increase the frequency of BPPV onset.
3. Hypovitaminosis D appears to be significantly associated to the increase of the frequency of multiple recurrences of BPPV, regardless of sex and age.
4. Vitamin D3 supplementation, as well as it corrects the hypovitaminosis D, takes effect in reducing BPPV recurrences.

References

1. Brandt T: Positional and positioning vertigo and nystagmus. J Neurol Sci 1990;95: 3-28.
2. Honrubia V, Baloh RW, Harris MR, et al.: Paroxysmal positional vertigo syndrome. Am J

Otol 1999; 20:465- 70.

3. Korres S, Balatsouras DG, Kaberos A, et al. : Occurrence of semicircular canal involvement in benign paroxysmal positional vertigo. Otol Neurotol 2002; 23:926- 32.
4. Dix MT, Hallpike CS: The pathology, symptomatology and diagnosis of certain common disorders of the vestibular system. Ann Otol Rhinol Laryngol 1952; 61:987- 1016.
5. Cipparrone L, Corridi G, Pagnini P: Cupulolithiasi; In V Giornata Italiana di Nistagmografia Clinica. Nistagmografia e patologia vestibolare periferica. Milano, CSS Boots-Formenti; 1985, pp. 36-53.
6. McClure J: Horizontal canal BPV. J Otolaryngol 1985;14:30- 35.
7. von Brevern M, Radtke A, Lezius F, et al.: Epidemiology of benign paroxysmal positional vertigo: a population based study. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2007;78:710–715. doi: 10.1136/jnnp.2006.100420
8. Gananca FF, Gazzola JM, Gananca CF, et al.: Elderly falls associated with benign paroxysmal positional vertigo. Braz J Otorhinolaryngol 2010 Jan-Feb;76(1):113-20.
9. Liao WL, Chang TP, Chen HJ, et al.: Benign paroxysmal positional vertigo is associated with an increased risk of fracture: a population-based cohort study. J Orthop Sports Phys Ther. 2015 May; 45 (5): 406-12. doi: 10.2519 / jospt.2015.5707. Epub 2015 March 26.
10. Lundberg YW, Zhao X, Yamoah EN: Assembly of the otoconia complex to the macular sensory epithelium of the vestibule. Brain Res. 2006; 1091:47–57.
11. Vibert D, Kompis M, Hausler R: Benign paroxysmal positional vertigo in older women may be related to osteoporosis and osteopenia. Ann Otol Rhinol Laryngol. 2003; 112:885–889.
12. Jeong SH, Choi SH, Kim JY, et al.: Osteopenia and osteoporosis in idiopathic benign positional vertigo. Neurology. 2009; 72:1069–1076.
13. Kim SY, Han SH, Kim YH, et al.: Clinical features of recurrence and osteoporotic

changes in benign paroxysmal positional vertigo. *Auris nasus larynx* 2016 Jul 13. pii: S0385-8146(16)30187-0. doi: 10.1016/j.anl.2016.06.006

14. Jeong SH, Kim JS, Shin JW, et al.: Decreased serum vitamin D in idiopathic benign paroxysmal positional vertigo. *J Neurol.* 2013 Mar;260(3):832-8. doi: 10.1007/s00415-012-6712-2.
15. Büki B, Ecker M, Jünger H, et al.: Vitamin D deficiency and benign paroxysmal positioning vertigo. *Med Hypotheses.* 2013 February ; 80(2): 201–204. doi: 10.1016/j.mehy. 2012.11.029
16. Talaat HS, Abuhadied G, Talaat AS, et al.: Low bone mineral density and vitamin D deficiency in patients with benign positional paroxysmal vertigo. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2015 Sep;272(9):2249-53. doi: 10.1007/s00405-014-3175-3. Epub 2014 Jun 29.
17. Zou J, Minasyan A, Keisala T, et al.: Progressive hearing loss in mice with a mutated vitamin D receptor gene. *Audiol Neurotol.* 2008; 13(4):219-30. doi: 10.1159/000115431
18. Holick MF: Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357: 266-81.
19. Adami S, Romagnoli E, Carnevale V, et al.: Linee guida su prevenzione e trattamento dell'ipovitaminosi D con colecalciferolo. Guidelines on prevention and treatment of vitamin D deficiency. *Reumatismo*, 2011; 63 (3): 129-147.
20. Wu J, Shang DP, Yang S, et al.: Association between the vitamin D receptor gene polymorphism and osteoporosis. *Biomed Rep.* 2016 Aug;5(2):233-236. Epub 2016 May 31.
21. Thacher TD, Clarke BL: Vitamin D insufficiency. *Mayo Clin Proc.* 2011; 86:50–60.
22. Wehr E, Pilz S, Boehm BO, et al.: Association of vitamin D status with serum androgen levels in men. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2010 Aug;73(2):243-8. doi: 10.1111/j.1365-2265.2009.03777.x.

23. Isaia G, Giorgino R., Rini G.B, et al.: Prevalence of hypovitaminosis D in elderly women in Italy: clinical consequences and risk factors. *Osteoporos Int* 2003; 14(7): 577-82.
24. Carnevale V, Modoni S, Pileri M, et al.: Longitudinal evaluation of vitamin D status in healthy subjects from southern Italy: seasonal and gender differences. *Osteoporos Int* 2001; 12: 1026-30.
25. Maggio D, Cherubini A, Lauretani F, et al.: 25(OH) D serum levels decline with age earlier in women than in men and less efficiently prevent compensatory hyperparathyroidism in older adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2005; 60: 1414-9.
26. Walther LE, Blodow A, Buder J, et al.: Principles of Calcite Dissolution in Human and Artificial Otoconia. *PLoS One* 2014; 9(7): e102516.doi:10.1371/journal.pone.0102516.
27. Tallat HS, Kabel AM, Khaliel LH, et al.: Reduction of recurrence rate of benign paroxysmal positional vertigo by treatment of severe vitamin D deficiency. *Auris Nasus Larynx* 2016 Jun;43(3):237-41. doi: 10.1016/j.anl.2015.08.009. Epub 2015 Sep 16.

Primary squamous cell carcinoma of parotid gland with sialo-cutaneous fistula: a rare clinical case.

Carcinoma squamocellulare primitivo della ghiandola parotide con fistola sialo-cutanea: un raro caso clinico.

Alberto Caranti¹, Chiara Masoni², Lorenza Mingazzini², Mauro Budini³, Giuseppe Viaro¹ and Andrea Cimatti¹

Author names and affiliations:

1. U.O. of Otorhinolaringoiatric department at San Pier Damiano Hospital, via Portisano 1, 48018 Faenza (Ravenna), Italy.
2. U.O. of Anaesthesia department at San Pier Damiano Hospital, via Portisano 1, 48018 Faenza (Ravenna), Italy.
3. Medicine student of University of Ferrara, via Aldo Moro 1, 44212 Ferrara (Ferrara), Italy.

Correspondence: Alberto Caranti, Medicine Student, San Pier Damiano Hospital, via Portisano 1, 48018 Faenza (Ravenna), Italy. Tel.: +39 333 3771239; E-mail: alberto.caranti@gmail.com

Abstract english:

Primary squamous cell carcinoma (PSCC) of parotid gland, as well as for other salivary glands, is a rare and aggressive malignancy that accounting for less than 1% of salivary glands neoplasms. PSCC is an aggressive neoformation of the elderly with a mean age of 64 years and a male-female ratio about 2:1. It is a rapidly advancing lesion which, if not recognised and treated early, results in high morbidity and mortality. Despite radical surgery and adjuvant radiotherapy, prognosis of this cancer continues to be poor. Patients typically present in an advanced stage with rapidly enlarging mass around the angle of mandible, often accompanied by cervical lymphadenopathy and facial nerve involvement. In our paper, we present a case about a 98 years old woman, with an history of 3 months painful growing mass at the left angle of mandible with a sialo-cutaneus fistula and left lip paralysis. We successfully perform an intervention to remove the mass, scarifying the mandibular and the cervical branches of left facial nerve which were involved by the neoformation grown. After one week the patient had a perfect recovery and the restraint of the mouth was good enough to consent to her to eat.

Abstract italiano:

Il carcinoma squamocellulare primitivo (PSCC) della ghiandola parotide, come anche quello a carico di altre ghiandole salivari, è una rara e aggressiva neoplasia che rappresenta meno dell'1% delle neoplasie complessive a carico delle ghiandole salivari stesse. Il PSCC è una neoplasia aggressiva che riguarda persone anziane, con un'età media di incidenza di 64 anni ed un rapporto maschio-femmina attorno a 2:1. Si tratta di una neoplasia ad avanzamento rapido che, se non riconosciuta e trattata precocemente, risulta in un'elevata morbilità e mortalità. Nonostante un intervento di chirurgia radicale e un trattamento radioterapico adiuvante, la prognosi di questo tumore continua ad essere pessima. Il paziente tipicamente si presenta all'osservazione clinica in fase avanzata, con una rapida crescita della massa attorno all'angolo della mandibola, spesso accompagnato da linfadenopatia laterocervicale ed un interessamento a carico del nervo faciale. Nel nostro articolo riportiamo il caso di una paziente di 98 anni, con una storia di dolore da 3 mesi, una massa in rapida crescita a carico dell'angolo sinistro della mandibola, associato ad una fistola sialo-cutanea e paralisi del labbro a sinistra. Abbiamo efficacemente performato un intervento di rimozione radicale della massa, sacrificando le branche mandibolare e cervicale del nervo faciale che erano state infiltrate dalla neoplasia. Dopo una settimana la paziente ha avuto un perfetto recupero funzionale e il restringimento del cavo orale conseguente la losanga di tessuto asportata, ha consentito una contenzione del cavo orale sufficiente a mangiare agevolmente.

Keywords:

Parotid gland tumour, head and neck oncology, head and neck surgery, head and neck pathology.

Case report english:

We present a case about a 98 years old female admitted to our department with an history of 3 months painful growing mass at the left angle of mandible with a sialo-cutaneus fistula and left lip paralysis. There was no history or other mass at head and neck level or other malignancy that could suggest a secondary involvement. On clinical examination it was visible a deformation of neck on the left side [**Figure 1**], in correspondence of left angle of mandible, with a fresh and reddish scar about 2,5 cm of diameter. Patient refer that during the weeks before, during mastication, from that area came out a transparent fluid that we

had considered as sialo-cutaneous fistula compatible with the rapid growth of mass. At palpation, mass was about 10 cm of major diameter, hard, non-tender, fixed to skin and fixed to deeper tissue. Considering the involvement of facial nerve and the advanced age of patient, we suggest to perform a parotidectomy to avoid the possibility that malignancy rise up the facial nerve, with an augmentation of neuropathic pain and nerve dysfunction. Patient, in accord with familiars, accept our purpose and we perform the parotidectomy in about 3 hours. To perform a radical excision of tumour, affect the parotid gland, we had to cut the mandibular and cervical branches of facial nerve, that was involved by tumour [Figure 2]. Moreover, we had to excise the area of facial skin interested by sialo-cutaneous fistula, which consistency suggest an infiltration due to tumour. The surgery was performed without complication, with the exportation of 7x4x2,5 cm mass [Figure 3], of a lymph node of 1,5x1,3 cm and a 5x2,5 cm skin's lozenge excision. The only deficit revealed from post-intervention clinical examination was a depression of left mouth angle, due to cutting of mandibular branch of facial nerve. In the other hand, even with left depression of inferior lip, the lifting effect guaranteed by skin's lozenge excision, there was no alteration in eating or drinking, so patient could have a normal life. She was discharged after three days and after one week she came back to medication and clinical re-examination. Cicatrization of surgical scar proceeded well and the general condition of patient was good.

Case report italiano:

Presentiamo il caso di una paziente di 98 anni, ammessa al nostro reparto con una storia di dolore da circa 3 mesi ed una massa a rapida crescita a livello dell'angolo della mandibola sinistro e corroborato da una fistola sialo-cutanea ed una paralisi del labbro a sinistra. Non riferiva invece la presenza di altre masse a livello del testa collo o storia di altre neoplasie che potessero suggerire un secondarismo. Dal punto di vista dell'esame clinico, era visibile una deformità del collo sul lato sinistro [Figura 1], in corrispondenza dell'angolo della mandibola, con una cicatrice fresca ed arrossata di circa 2,5 cm di diametro. La paziente riferiva che nelle settimane precedenti, durante la masticazione, da quell'area fuoriusciva un fluido trasparente che ha portato ad identificare la lesione come una fistola compatibile con la velocità di accrescimento della massa. Alla palpazione, la massa risultava essere approssimativamente di 10 cm di diametro, dura, tesa, non mobile rispetto i piani profondi e superficiali. Considerando il coinvolgimento del nervo cranico e l'avanzata età della paziente, abbiamo deciso di performare una parotidectomia totale per prevenire la possibilità che la neoplasia ripercorresse il nervo faciale, con aumento del dolore

neuropatico e inficiasse la funzione di altre branche causando altre disfunzioni. La paziente, in accordo con i suoi familiari, accetta la nostra proposta e abbiamo potuto procedere all'intervento di parotidectomia, durato circa 3 ore. Per avere un'escissione radicale del tumore, è stato necessario resecare le branche mandibolare e cervicale del nervo faciale, infiltrate dalla neoplasia **[Figura 2]**. Sempre in ottica di radicalità, è stato necessario resecare una losanga cutanea dato che vi era stata un'infiltrazione della cute, testimoniata proprio dalla fistola sialo-cutanea. L'intervento è stato effettuato senza complicanze, con l'esportazione di una massa di 7x4x2,5 cm **[Figura 3]**, e di un linfonodo interessato delle dimensioni di 1,5x1,3 cm. La losanga cutanea escissa era di 5x2,5 cm. L'unico deficit riscontrato in sede post-operatoria, è stato relativo alla depressione dell'angolo buccale di sinistra, causato dalla resezione della branca mandibolare del nervo faciale. Dall'altro lato, questo deficit, compensato dall'effetto lifting avuto grazie alla losanga cutanea escissa, non ha inficiato la possibilità di bere o mangiare della paziente, che ha potuto quindi continuare a svolgere la sua vita senza ripercussioni. La paziente è stata dimessa già dopo tre giorni e dopo una settimana è stata medicata e rivalutata. La cicatrizzazione della ferita procedeva adeguatamente e le condizioni generale della paziente erano buone.

Discussion english:

Primary squamous cell carcinoma (PSCC) of parotid gland, as well as for other salivary glands, is a rare and aggressive malignancy that accounting for less than 1% of salivary glands neoplasms (1). Actually, the statistic reported by different authors in literature, could be slightly different. For example, Flynn M. B. et al., in a cohort study of 370 patients affected by parotid tumour, found a 2% of true primary squamous cells carcinoma (2). Moreover, it is an aggressive tumour of the elderly, with a mean age of incidence at 64 years and a male-to-famel ratio approximately around 2:1. The usually presentation of PSCC is in an advanced stage, with patient who refer a rapidly enlarging mass around the angle of mandible. It is not rare that the patient could refer pain at level of gland (among 33% of cases), a facial paralysis (17%) and a cervical adenopathy (11%) (1). In our case patient present pain as well as facial paralysis especially to cervical and mandibular branches of facial nerve. In literature, Alam M. et al. refer a case about a patient that manifest as first and only symptom a paralysis of facial nerve, so a differential diagnosis with Bell's palsy was suspected (3). The case we present had more symptoms, like involvement of skin, with reddening and augmentation of consistence, and, even more important, the presence of a

sialo-cutaneous fistula. Both of symptoms were suggestive of an advanced stage of malignancy. Considering the advanced age of patient, we decide to provide the intervention trying to arrest the involvement of facial nerve, and save the patient from the neuropathic pain. Histopathologically, second the literature, most of tumours are moderately to well differentiated SCC with desmoplastic stroma and evidence of perineural invasion or soft tissue extension (1). For us was the same, and the Anatomical Pathologist found a moderately differentiated SCC with infiltration of muscular tissue, perineural invasion and vascular invasion [Figure 4]. During surgery intervention, we excised a lymph node of 1,5x1,3 cm resulted positive for metastasis. The fragmentation of tissue do not permitted the correct evaluation of excision margins. In the end, the correct management of SCC includes total parotidectomy with elective radical neck dissection, postoperative radiotherapy and periodic follow-up. In the other hand, patients with age more than 60 years, ulceration of mass, deep fixation, facial nerve involvement and cervical lymph node metastasis are associated with significantly poor prognosis, as a 5 years survival of 25-30% (4). By the way, considering her extremely advance age, the patient, in accord with her family, decide to not be submitted to radiotherapy. We'll continue to follow the patient during the next months.

Discussione italiano:

Il carcinoma squamocellulare primitivo (PSCC) della ghiandola parotide, così come nel caso delle altre ghiandole salivari, rappresenta una rara ed aggressiva neoplasia che rappresenta meno dell'1% delle neoplasie delle ghiandole salivari (1). In realtà, le statistiche riportate dai differenti autori in letteratura, possono essere abbastanza differenti. Per esempio, Flynn M. B. et al., in uno studio coorte di 370 pazienti affetti da tumori della parotide, trovarono un 2% di carcinomi squamocellulari primitivi veri (2). Si tratta comunque di un tumore molto aggressivo che riguarda l'età avanzata, con un'età media di incidenza attorno ai 64 anni ed un rapporto maschi:femmine di 2:1. Solitamente, la presentazione classica del PSCC è quella di una neoplasia in fase avanzata, con un paziente che riferisce una crescita rapida della massa attorno all'angolo della mandibola. Non è raro che il paziente possa riferire dolore a livello della ghiandola (circa il 33% dei casi), una paralisi del faciale (17%) e una adenopatia laterocervicale (11%) (1). Nel nostro caso, la paziente riferiva dolore e paralisi a livello delle branche mandibolare e cervicale. In letteratura, Alam M. et al. riferisce un caso a proposito di una paziente che manifestava come primo ed unico sintomo la paralisi a

carico del nervo faciale, una situazione che si poneva in diagnosi differenziale con una paralisi di Bell (3). Nel caso che abbiamo presentato tuttavia vi erano ancora altri sintomi, quali l'interessamento cutaneo, con arrossamento e aumento della consistenza e, ancora più importante, la presenza di una fistola sialo-cutanea. Entrambi questi sintomi erano suggestivi di una fase molto avanzata della neoplasia. Considerata l'età avanzata della paziente, abbiamo deciso di eseguire un intervento finalizzato ad arrestare l'involuzione a carico del nervo faciale, risparmiando alla paziente quindi un importante dolore neuropatico. Dal punto di vista isto-patologico, la letteratura ci dice che la maggior parte di questi tumori sono moderatamente o ben differenziati, con stroma desmoplastico ed evidenza di invasione perineurale o un'estensione ai tessuti molli (1). Nel nostro caso fu lo stesso ed gli anatomicopatologi trovarono una differenziazione di grado moderato con infiltrazione del tessuto muscolare, invasione perineurale e invasione vascoalre [Figura 4]. Durante l'intervento chirurgico, abbiamo eseguito un linfonodo di 1,5x1,3 cm risultato positivo per metastasi. La frammentazione del tessuto non permetteva tuttavia una corretta valutazione dei margini. Infine, il corretto management del SCC include la parotidectomia totale con svuotamento laterocervicale e radioterapia adiuvante, oltre che un follow-up periodico. D'altro canto, un paziente con 60 anni di età, ulcerazione della massa, fissità della lesione rispetto ai piani profondi, involuzione del nervo faciale e metastasi a livello dei linfonodi laterocervicale vede una prognosi infausta, con una sopravvivenza a 5 anni del 25-30% (4). Tuttavia, considerata l'età estremamente avanzata, la paziente, sempre in accordo con i familiari, ha deciso di non sottoporsi alla radioterapia. Dalla nostra parte, continuiamo a seguire la paziente nei mesi.

References:

1. Akhtar K. Et al. – “Primary squamous cell carcinoma of the parotid gland: a rare entity” - BMJ Case Reports 2013 (1): 1-4;
2. Flynn M. B. et al. – “Primary squamous cell carcinoma of the parotid gland: the importance of correct histological diagnosis.” - Ann Surg Oncol 1999 (8):768-70;
3. Alam M. et al. – “Acute facial paralysis due to primary squamous cell carcinoma of the parotid gland.” - Ir Med J 2007 (100) 568-9;
4. Lee S. et al. – “Primary squamous cell carcinoma of the parotid gland.” - Am J Otolaryngol 2001 (22) 400–6;

Figures:



Figure 1: visible a deformation of neck on the left side in correspondence of left angle of mandible, with a fresh and reddish scar about 2,5 cm of diameter.



Figure 2: Infiltration of mandibular and cervical branches of facial nerve.



Figure 3: Exportation of 7x4x2,5 cm mass.

Figure 4: Pathological anatomy's images showing perineural infiltration at 40x.

STUDIO IN VITRO DEGLI EFFETTI DELL'INALAZIONE DI CORTICOSTEROIDI SULLA MUCOSA ORALE E LARINGEA

R. MENICAGLI , O. MAROTTA

SOMMARIO

BACKGROUND e OBIETTIVI - le attività farmacologica di corticosteroidi, è dovuto alla formazione nel sangue del complesso corticosteroide i proteina glicosilata, (CCP), che penetra nelle cellule bersaglio dopo il legame al recettore citoplasmatico Questo processo di interazione, può anche avvenire , con le proteine salivari, con la loro precipitazione parziale .Lo scopo di questo studio è, per dimostrare che, questo processo , coinvolge le più importanti componenti proteiche del muco orale, le mucine salivari secrete , MUC 7 e MUC5B.

MATERIALI METODI -In due campioni di saliva intera fornite da volontari, vengono aggiunte diverse concentrazioni di tre corticosteroidi, Beclometasone, Budesonide, Fluticasone. Dopo centrifugazione nel surnatante, vengono dosate, le quantità di proteine salivari totali e mucine non precipitate .I risultati vengono analizzati statisticamente con il Mann Whitney U Test, T, Pearson Coefficiente di correlazione e T Test

RISULTATI -DISCUSSIONE – per tutte le dosi di ogni corticosteroide aggiunto ,si osservano differenze di precipitazioni di proteine e mucine .che per il , Budesonide , sono, statisticamente maggiori , $p \leq 0,05$, sia rispetto al Beclometasone che al Fluticasone.. Per tutti e tre i corticosteroidi, v'è un valore di saturazione, e ,fino a questo valore, vi è una buona correlazione tra dosaggio di corticosteroidi e le quantità del mucine proteina-precipitate, (coefficiente Pearson di 0,91), Il risultato del , Budesonide rispetto al Beclometasone può trovare una spiegazione, per la presenza nel primo corticosteroide, di due gruppi ossidrilici, (uno solo nel beclometasone),che aumenta la formazione di legami a ponte di idrogeno .La differenza del Budesonide, rispetto al fluticasone, è legata al fatto , che i parametri, che stabilizzano il complesso (CCP), ovvero legami idrogeno ,forze di Van der Waals, sono in questo caso meno influenti della solubilità in acqua,dei corticosteroidi che è nulla per il fluticasone,

- ROMA BIOMED RESEARCH ; SENIOR RESEARCH IN BIOCHEMISTRY

Martiri Libertà 6 / a 20060 Mediglia Italia. e-mail ; menicagli@libero.it

PAROLE CHIAVE: CORTICOSTEROIDI; AEROSOL PRECIPITAZIONI; PROTEINE; MUCINE SALIVARI

INTRODUZIONE

Per le sue proprietà anti-infiammatorie, i farmaci cortisonici sono utilizzati con successo nel trattamento di malattie respiratorie come l'asma e la fibrosi polmonare. La farmacologia dei corticosteroidi è molto complessa, ma può essere riassunta con l'enunciazione di queste attività:

1-interazione a- e formazione del complesso proteina glicosilata - corticosteroide - (CCP)

2-transporto in forma inattivata del (CCP) sulle cellule bersaglio

c- legame al recettore citoplasmatico del complesso, sua attivazione e penetrazione (CCP) nelle cellule

d- attività propria antinfiammatoria del corticosteroide: il complesso (CCP), penetra nel nucleo e interagisce con il DNA attivandolo a inibire la trascrizione genica che produce le sostanze, responsabili dei principali effetti farmacologici infiammatori. Il complesso, inoltre, è in grado di bloccare la strada di formazione del NFkB (fattore nucleare kappa-light), migliorando così l'attività delle cellule B attivate.

Nel sangue, questo processo di formazione e attivazione, che coinvolge circa l'ottanta per cento della concentrazione del corticosteroide, è tra lo stesso farmaco (posizione C19 e C23), e una proteina glicosilata, membro di una super famiglia (serpina), che ha alta affinità per il trasporto per i glucocorticoidi nel sangue.

Questa glicoproteina ha circa il 30%, (1) della sua massa rappresentata da catene di oligosaccaridi N-legati, e all'analisi cristallografica ha dimostrato che il complesso, "cortisolo-CBG" mostra la tipica conformazione della serpina con il Reactive Center Loop,(2,(3)), completamente esposto. I corticosteroidi possono accoppiare con altre proteine e loro affinità possono variare notevolmente. In funzione di molti parametri, questi meccanismi di legame sono stati studiati per comprendere sia la capacità antinfiammatoria del cortisone, sia alcuni dei possibili effetti collaterali di tali farmaci. Queste variazioni in realtà dipendono non solo dal tipo di struttura chimica dei composti cortisone(4),, ma come è stato dimostrato recentemente anche, e forse più di quella delle proteine. In particolare possono avvenire naturalmente o meno, modifiche / alterazioni nel processo di glicosilazione delle proteine del siero,(5),(6) che comporta una variazione della percentuale della parte carboidrato .Questi cambiamenti modificano il ripiegamento della proteina in modo definitivo con conseguenze sia in termini di possibili attività catalitiche della stessa. Nei processi di interazione tra proteine e corticosteroidi facilmente si verificano dunque ,molto facilmente nel sangue. con la formazione di un complesso stabile, e ciò può ragionevolmente avvenire anche nella saliva,dove molte sono le frazioni di proteine glicosilate. In questo mezzo, la saliva , non vi sono globuline, come quelle presenti nel sangue ,ma altre, che possono addirittura avere ancor più alta affinità con i corticosteroidi, e quindi possono creare complessi molto stabili . Questo fatto potrebbe cambiare la loro funzionalità e il loro ruolo, che è fondamentale per le difese del cavo orale e della laringe. In uno studio precedente (7), abbiamo dimostrato, come le proteine salivari interagissero con due differenti corticosteroidi, utilizzati come farmaci inalatori, in persone asmatiche. Questi due corticosteroidi ,infatti interagendo con le proteine salivari, hanno permesso la precipitazione di una quantità che a dosi

terapeutiche, ha raggiunto circa 20 delle stesse . Le interazioni proteina-farmaco ,nella saliva ,svolgono un ruolo chiave nella farmacocinetica e farmaco-dinamica dei farmaci. In particolare interazione mucine,che sono la frazione proteica più importante con il farmaco, può avere effetti importanti sulla assorbimento dello stesso. Il muco ,infatti,è la prima barriera che i farmaci devono superare per essere adsorbiti ed accedere al sistema circolatorio), e sulla sua distribuzione, (solo la concentrazione libera di farmaco può raggiungere il bersaglio e produrre una risposta biologica). Ciò significa che un elevato legame può ridurre l'effetto farmaceutica del farmaco.

Al di là dei tipi di nebulizzatori utilizzati nella terapia di aerosol, si deve sottolineare che il trattamento con i corticosteroidi ,non è associato solo alla stagione invernale e con il raffreddore, ma anche alla primavera ,ove i fenomeni allergici, si verificano più frequentemente . Pertanto l'uso costante di corticosteroidi può portare ad un aumento degli effetti collaterali a causa di quest'ultima, devono essere usati con cautela I farmaci corticosteroidi per inalazioni,spesso possono provocare raucedine, con atrofia delle corde vocali, lesioni fungine, e xerostomia .La nostra ipotesi è infatti che, queste interazioni, fra corticosteroidi e proteine coinvolgano ,in realtà la frazione più importante del muco orale e della saliva ,ovvero , le Mucine specialmente quelle secrete , MUC 7 e MUC5B , (8)

Poiché il muco /saliva , agisce come una barriera, ci sono due meccanismi principali che limitano la diffusione attraverso di esso.: l'interazione con i suoi componenti ,di tipo elettrostatico, interazioni idrofobiche con mucine e le altre proteine salivari), ed infine quelle fisiche relative alla dimensione delle maglie che si formano tra proteina e proteina, a costituire una specie di filtro . Molti studi evidenziato che nessuna immagine definitivo della natura delle interazioni molecolari tra molecole di farmaco e le componenti muciniche , può essere in realtà evidenziata con assoluta certezza ,anche se ,il meccanismo che è alla base della formazione del complesso , è già stata chiarito in parte, in modo qualitativo, mediante studi spettrofotometriche, (9).

L'analisi spettroscopica UV-Vis , ha mostrato infatti, che il farmaco prednisolone, è in grado di legarsi alle mucine per formare un complesso proteina-farmaco . I dati con spettroscopia a i fluorescenza dimostrano che l'assorbimento in fluorescenza della mucina , può essere diminuito , mediante la progressiva aggiunta del farmaco studiato e che ciò è governato da un" raffreddamento",nella dinamica di interazione fra mucina e prednisolone, specificatamente e , secondo parametri termodinamici, con l'aumento delle interazioni idrofobiche, con la possibile costituzione di legami idrogeno ed infine con le forze di van der Waals,. Tutti questi parametri possono giocare un ruolo importante nello stabilizzare il complesso mucina-prednisolone .Scopo di questo nostro studio, è quello di ottenere dati quantitativi , di questi processi di interazione., verificando, eventuali differenze tra i differenti corticosteroidi ee possibilmente tra le proteine totali salivari, e la frazione mucina, in base alle quantità precipitate delle stesse.

MATERIALE E METODI

I campioni di saliva intera , 10 ml, sono stati forniti da un volontario di sesso maschile di 30 anni, non fumatore ,non con malattie cardiovascolari .La quantità di saliva utilizzata per ogni singolo test ,è quella che il paziente produce,i in un tempo medio necessario per un ciclo di terapia di aerosol .

In campioni di saliva prima e dopo l'aggiunta di corticosteroidi, sono state determinate le concentrazioni della proteina totale per il metodo del biureto a, il pH con ECO digitale, mentre per il dosaggio del totale mucine salivari sono utilizzati Metodo Blu Alcian

Tre campioni di corticosteroidi, sono stati utilizzati, e le loro proprietà/caratteristiche commerciali sono le seguenti:

1-beclometasone dipropionato: 0,8 mg / 2 ml di sospensione sia aerosol nebulizzato ;fiale monodose da 2 ml aerosol Composizione 100 ml di sospensione sterile contenente: principio attivo: beclometasone dipropionato 0,040 g. Eipienti: Sodio cloruro; Polisorbato 20; monolaurato di sorbitano; Acqua per preparazioni iniettabili

2- Budesonide 0,5 mg / ml di sospensione nebulizzatore 1 contenitore monodose contiene:
Principio attivo: 1 mg busedonide

3 Fluticasone polvere per inalazione 100, 250 e 500 microgrammi di fluticasone propionato pressurizzata per inalazione, sospensione da 50, 125, 250 mcg di fluticasone propionato

Dopo l'aggiunta di corticosteroidi, alla saliva, gli stessi campioni sono stati sottoposti a centrifugazione a 4000 rpm per due minuti, nel surnatante sono stati determinati , le mucina e le proteine totali. I risultati sono analizzati statisticamente con Mann-Whitney U test, e Coefficiente di correlazione di Pearson

Mann-Whitney U test è un test non parametrico che consente di raffrontare due gruppi o condizioni , senza fare l'ipotesi che i valori sono normalmente distribuiti

Requisito: il dato è continuo, la scala di misura dovrebbe essere ordinata , viene utilizzato il range di dei valori totali

Coefficiente di correlazione di Pearson :utile per misurare la forza di un'associazione lineare tra due variabili, dove il valore $r = 1$ indica una correlazione positiva perfetta e il valore $r = -1$

Per la differenza della precipitazione delle mucine dalle tre corticosteroidi sono analizzati statisticamente, con T test, due code, in varianza identico

RISULTATI

TABELLA 1 QUANTITA' DI BECLOMETASONE E PRECIPITAZIONI PERCENTUALE DI PROTEINE E MUCINE SALIVARI

BECLOMETASONE mg	PROTEINE SALIVARI TOTALI Iniziale concentrazione nella saliva mg/dL =33		MUCINE SALIVARI TOTALI Iniziale concentrazione nella saliva mg/dL = 50		SALIVA cc
	Proteins in surnatant mg/dL	% precipitation	Mucins in surnatant mg/dL	% precipitation	
0	314.	5	48	4	10
0.2	310	6.1	47	6	10
0.5	300	9.1	45	10	10
0.8	280	15.2	42	13	10
1	260	21,2	40	17	10
1.2	255	22.7	38	21	10
1.4	250	24,4	37	24	10
1.6	248	24.8	36	26	10
1.8	240	27.2	35	28	10
2	240	27.2	35	29	10
2.5	240	27.2	35	30	10
3	240	27.2	35	30	10

RESULTATI DELL'ANALISI STATISTICA :

MANN-WHITNEY U TEST BECLOMETASONE : PROTEINE TOTALI VS MUCINE TOTALI

The U-value is 59.5. The critical value of U at p < .05 is 45. Therefore, the result is not significant at p < .05.

The Z-Score is -1.23443. The p-value is .2187. The result is not significant at p <

FIGURA 1 : BECLOMETASONE :STRUTTURA CHIMICA

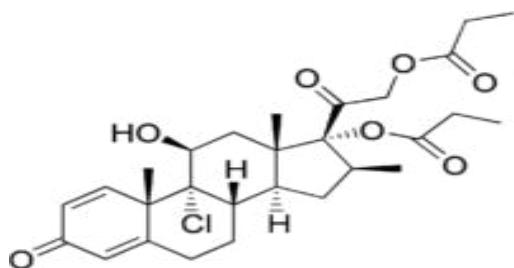


TABELLA 2 – QUANTITA' DI BUDESONIDE E PRECIPITAZIONI PERCENTUALE DI PROTEINE E MUCINE SALIVARI

BUDESONIDE mg	PROTEINE SALIVARI TOTALI Initiale concentration nella saliva mg/dL = 350		MUCINE SALIVARI TOTALI Initiale concentratione nella saliva mg/dL = 50		SALIVA cc
	Proteins in surnatant mg/dL	% precipitation	Mucins in surnatant mg/dL	% precipitation	
0.1	340	3	48	4	10
0.2	330	5.7	47	6	10
0.5	310	13.4	46	12	10
0.8	290	18.9	43	17	10
1	280	22,2	41	20	10
1.2	270	23.7	38	24	10
1.4	250	25,4	37	26	10
1.6	240	26.8	36	28	10
1.8	240	27.2	35	30	10
2	240	27.2	35	30	10
2.5	240	27.2	35	30	10
3	240	27.2	35	30	10

RISULTATI DELL'ANALISI STATISTICA :

MANN-WHITNEY U TEST for BUDESONIDE : PROTEINE TOTALI V VS TOTALI MUCINE

The U-value è 58. Il valore critico di U per p < .05 è 37. Il risultato noè statisticamente significante

The Z-Score is -0.77942. The p-value is .4354. The result is not significant at p < .05.

FIGURA 2 ; BUDESUNIDE : STRUTTURA CHIMICA

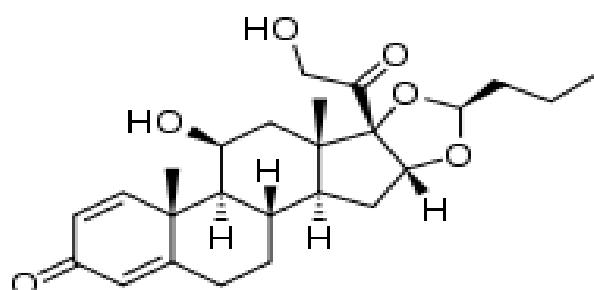


TABELLA 3 - QUANTITA' DI FLUTICASONE E PRECIPITAZIONI PERCENTUALE DI PROTEINE E MUCINE SALIVARI

FLUTICASONE mg	PROTEINE SALIVARI TOTALI: concentrazione iniziale nella saliva mg/dL = 35		MUCINE SALIVARI TOTALI Concentrazione iniziale nella saliva mg/dL = 5		SALIVA cc
	Proteine nel surnatante mg/dL	% precipitazione	Mucine nel surnatante mg/dL	% precipitazione	
0.1	350	0	50	0	10
0.2	343	1	50	0	10
0.5	342	2	49	3	10
0.8	336	4	48	5	10
1	33.5	4	.47	6	10
1.2	325	8	47	6	10
1.4	319	9	45	10	10
1.6	315	10	45	10	10
1.8	315	10	45	10	10
2	315	10	45	10	10
2.5	315	10	45	10	10
3	315	10	45	10	10

RESULTATI DELL'ANALISI STATISTICA

MANN-WHITNEY U TEST FLUTICASONE : PROTEINE TOTALI VS MUCINE TOTALI

The U-value è 68. Il valore critico di U per $p < .05$ è 37. Il risultato non è significante per $p < .05$.

The Z-Score è -0.20207.; p-value =0 .84148. Il risultato non è significante per $p \leq 0.05$

The U-value è 68. Il valore critico di U per $p \leq 0.05$ è 37 .Il risultato non è significante per $p \leq 0.05$

FIGURA 3 - FLUTICASONE STRUTTURA CHIMICA

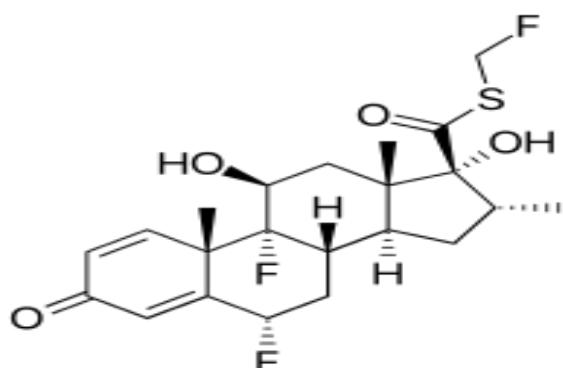


TABELLA 4 ; CORTICOSTEROIDI E PRECIPITAZIONI DELLE MUCINE SALIVARI

BECLOMETASONE		BUTESOMIDE		FLUTICASONE	
mg	% Precipitazione mucine	mg	% Precipitazione mucine	mg	% Precipitazione mucine
0.1	4	0.1	4	0.1	0
0.2	6	0.2	6	0.2	1
0.5	10	0.5	12	0.5	2
0.8	13	0.8	16.5	0.8	4
1	17	1	20	1.0	4
1.2	21	1.2	24	1.2	8
1.4	24	1.4	26	1.4	9
1.6	26	1.6	28	1.6	10
1.8	28	1.8	30	1.8	10
2.0	29	2.0	30	2.0	10
2.5	30	2.5	30	2.5	10
3.0	30	3.0	30	3.0	10
MEDIA mg 13.4	MEDIA di Precipitazione 19.8 %	MEDIA mg 13.4	MEDIA di Precipitazione 21.5 %	MEDIA mg 13.4	Average di Precipitazione 5.8 %

TEST T BUDESONIDE Vs BECLOMETASON ; $p = 0.334$; $p \geq 0.05$

TEST T BECLOMETASONE VS FLUTICASONE ; Il T-value è -3.52189. p-value = .003385. Il risultato è statisticamente significante at $p < .05$

TEST T BUDESONIDE VS FLUTICASONE ; The t-value is -3.79393. p-value = 0.00882. Il risultato è statisticamente significante ; $p < .05$

COEFFICIENTE DI CORRELAZIONE DI PEARSON ; mg Beclometasone Vs % Precipitazione delle mucine

Il valore di R è 0.940. Questa è una forte correlazione positiva

COEFFICIENTE DI CORRELAZIONE DI PEARSON ; mg BUDESONIDE Vs % Precipitazione delle mucine

Il valore di R è 0.904) .Questa è una forte correlazione positiva

COEFFICIENTE DI CORRELAZIONE DI PEARSON mg FLUTICASONE Vs % Precipitazione delle mucinse

Il valore di R è 0,8912. Questa è una forte correlazione positiva

FIGURA 1 TEST DI CORRELAZIONE PER IL BECLOMETASONE (PEARSONS)
LEGENDA

Vedere tabella 4- : x value mg
Corticosteroide : y value %
Precipitation Mucine

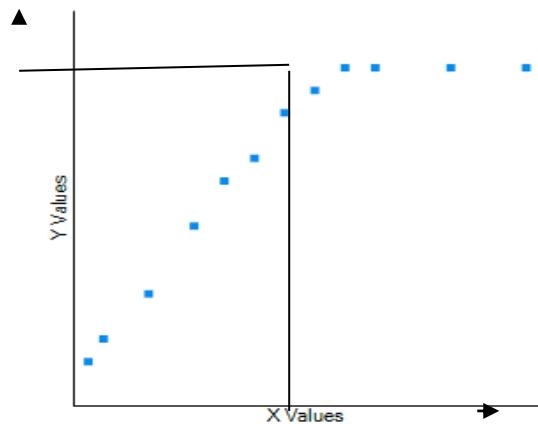


FIGURA 2 TEST DI CORRELAZIONE PER IL BUDESONIDE (PEARSONS)

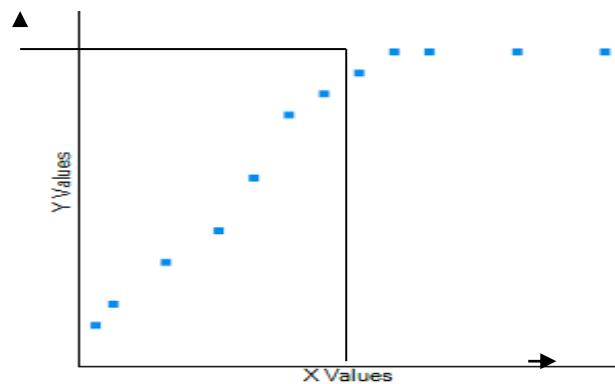
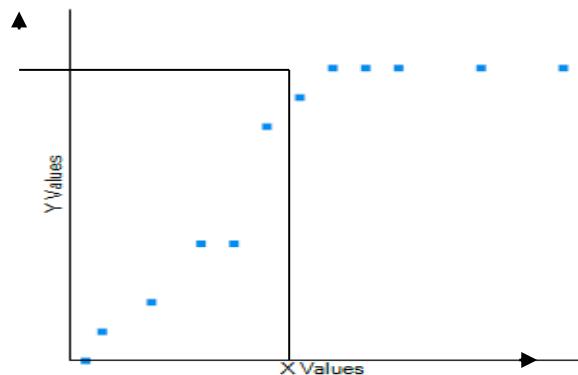


FIGURA 3 TEST DI CORRELAZIONE PER IL FLUTICASONE (PEARSONS)



DISCUSSIONE

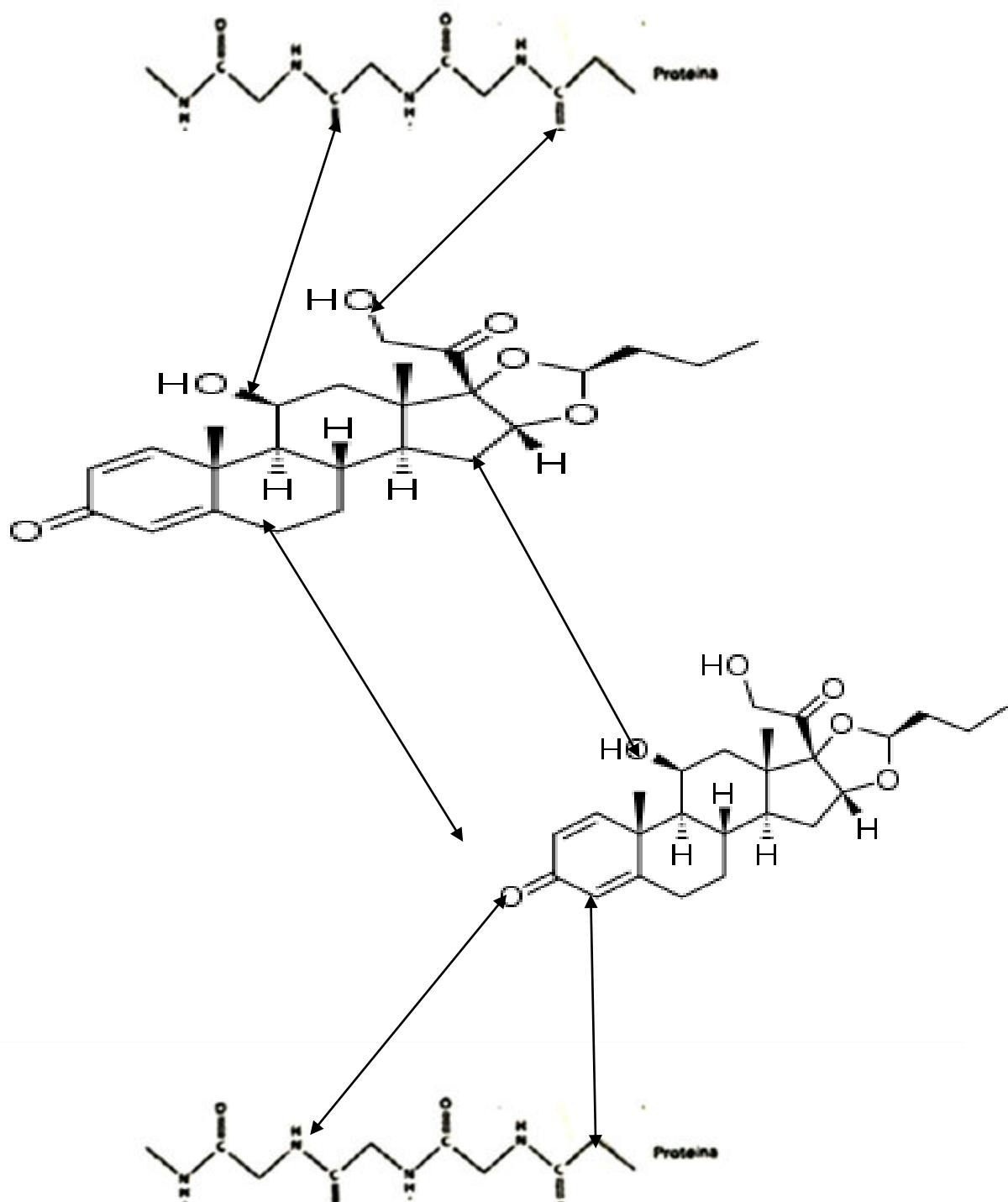
I risultati sopra descritti, confermano i risultati della nostra precedente ricerca (7), ed anche quelli ottenuti in un altro studio,(10) anche se la quantità delle proteine precipitate da Beclometasone e Budesonide, sono minori. In particolare, proprio in riferimento ai risultati precedenti, che questa volta è la quantità di mucina proteine .che salivare precipitato, è dovuto all'aggiunta di budesonide Questa differenza, ha un andamento costante, vedi tabella 1 e 2, per tutte le dosi aggiunte di corticosteroidi; sperimentalmente, rispetto allo studio precedente, il corticosteroide aggiunto alla saliva era altamente dispersa con un micro vibratore, dopo la sospensione che si ottiene, vedi foto 1, è stato centrifugato per due minuti a 4000 rpm e non lasciata decantare, ottenendo un surnatante. assolutamente chiaro vedi foto 2 Questi risultati, tuttavia, può essere quello di trovare una spiegazione logica, ammettendo che le principali forze che governano il processo di interazione che porta alla formazione e la stabilizzazione del complesso proteina-corticostrioid, sono i legami idrogeno, interazioni idrofobiche e forze di van der Waals. Theese possono giocare un ruolo importante nello stabilizzare proteine complesse - corticostrioid, come accadere, per esempio, quando vengono aggiunti nella saliva composti polifenoli, (11), con il risultato che anche in piccola concentrazione della stessa, v'è la proteine totale precipitazione , (12) .In questo caso una regola fondamentale è da due a legami idrogeno che si instaurano tra i gruppi ossidrilici (OH) di polifenoli e carbonile (C = O), degli aminoacidi delle proteine

Nel budesonide in realtà ci sono due gruppi ossidrilici, uno solo beclometasone, vedere figure e uguale solubilità in ambiente acquoso, che è ancora molto basso, questo fatto può giustificare i risultati delle Tabelle 1,2,4. I dati di precipitazione, rilevano bassissima concentrazione sia nella precipitazione di cge protine di mucine, con differenze statisticamente significative rispetto a quella sial Budesonide Beclometasone, e questo dipende praticamente insolubilità del corticosteroide in ambiente acquoso ..tutti fattori sopra menzionati, fanno sì che i corticostrioidi composti possono facilmente interagire con le proteine ed anche con le mucine modificando la caratteristica della struttura colloidale vedere figure s strutture

.Questi assumono la forma di polimeri dispersi in saliva, con le proprietà fisiche colloidali e in particolare la loro stabilità nella fase disperdente, nel nostro caso la saliva, dipendono dal doppio strato elettrico che caratterizza la proteina dell'interfaccia doppio strato, o generate dal potenziale elettrico, chiamati Z. il potenziale formazione di legami tra un singola molecola corticostrioidi e una particella colloidale proteina deforma quest'ultima struttura, cambiate l'interfaccia del doppio strato, cambiando il potenziale Z e ha la precipitazione. I risultati espressi in 1,2.3 tabelle mostrano anche che non vi sono differenze statisticamente significative nelle quantità di proteine precipitate, rispetto al mucine, e ciò indica che la parte glicosilata della stessa, è irrilevante .Probabilmente ciò avviene ,perché nei processi di interazione,la componente terminale zuccherina della proteina , sottrae acqua al sistema, con un processo di solvatazione che tende ad isolare il corpo principale della stessa ,ricca in prolina ,che è quella importante per le interazioni idrofobiche. Questo fatto, insieme con la bassa solubilità dei corticostrioidi, quasi nulla per

Fluticasone, il sistema porta ad una rapida saturazione, praticamente per un dosaggio 1,6 mg, come si può vedere dalle figure e dalle rispettive tabelle

FIGURA 4 :FORMAZIONE DEL COMPLESSO CORTICOSTEROIDE PROTEINA



**FOTO 1 – FORMAZIONE INIZIALE DEL COMPLESSO PROTEINE –
CORTICOSTEROIDE**

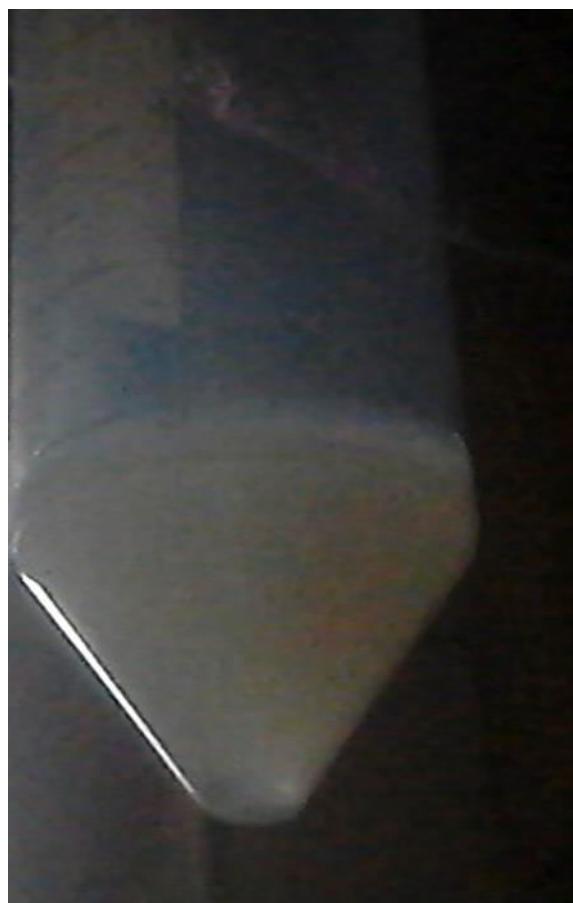


FOTO 2. FORMAZIONE E PRECIPITAZIONE DEL COMPLESSO DOPO CENTRIFUGAZIONE



REFERENCES

- 1 Chuang CK, Lin HY, Wang TJ, Tsai CC, Liu HL, Lin SP (2014). A modified liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for predominant 6isaccharide units of urinary glycosaminoglycans in patients with mucopolysaccharidoses. *Orphanet J Rare Dis. Sep 2;9:135*
- 2_ Gardill BR, Vogl MR, Lin HY, Hammond GL, Muller YA,; *PloS One.*(2012). *7(12): Dec 3 Mickelson KE ,et al ,1981,Steroid –protein interaction .Human corticosteroid binding globulin:some physicochemical properties and binding capacity .biochemestry ,Oct 13 ;20(21):6211-8*
- 4-Westphal, 1978 Westphal U (1978). *Steroids –Proteins Interaction ISBN-13-78-978.Springer –Venlag Ed*
- 5-, Avvakumov GV, Grishkovskaya I, Muller YA, Hammond GL (2002). Crystal structure of human sex hormone-binding globulin in complex with 2-methoxyestradiol reveals the molecular basis for high affinity interactions with C-2 derivatives of estradiol. *J Biol Chem. Nov 22;277(47):45219-25*
- 6- S; Ali S, Bassett JR (1995). Studies on the role of glycosylation in the origin of the electrophoretic variants for rat corticosteroid-binding globulin. *Steroids. Nov;60(11):743-52*
- 7-Menicagli R ,Duca M Arizzi C,Merit Journ. Resech, 2016 Vol. 4(2) pp. 127-132, February
- 8- Gibbins HL (2014). Concentration of salivary protective proteins within the bound oral mucosal pellicle. *Oral Dis. Oct; 20(7):707b*

9- Pontremoli C Barbero N,Viscardi G,Visentin S,2015.Mucin-drugs interaction:the case of theophylline ,prednisolone and cephalexin.Biorg Med Chem,Oct 15,23(20):6581-6

- 10 Navarrete B A,et al , 2015,Effects of inhaled corticosteroids on saliva composition :a cross sectional study in patient with bronchial asthma.Clin Drug Investig,sept,35(9),569-74

11- Menicagli R, Duca M, Rancoita PMV (2016). Traditional Food Habits and their Possible Relationship in Diseases of the Mouth: The Useof Paprika MR Journal, Jan ,pp 1-7

12- Menicagli, R., Duca, M., Rancoita, P. M. V. and Arizzi, C. E, 2016 The influence of the mucins in genetic balance in oral and laryngeal cancer and by their biochemical behaviour a working hypothesis for their care, International Journal of Current Research Vol. 8, Issue, 04, pp. 29800-29806,

STUDY IN VITRO OF THE EFFECTS OF CORTICOXYTEROID ON THE ORAL AND LARINGEAL MUCOSA

R. MENICAGLI ROBERTO*, O. MAROTTA**

ABSTRACT

The pharmacological activity of corticosteroids, is due to the formation in the blood ,of a complex between the corticosteroid ,with a glycosylated protein , allowing the same to penetrates into the target cells. This interaction process may also take place, with the some salivary proteins, with their partial precipitation .The aim of this study is to demonstrate that, this process may involves ,the salivary mucins, MUC 7 ,MUC5B.

MATERIALS METHODS - In two whole saliva samples provided by volunteers, are added different concentrations of three corticosteroid, beclomethasone, budesonide, fluticasone. After centrifugation in the supernatant, are dosed, the amount of total proteins and mucins not precipitated .The results are analyzed statistically by the Mann Whitney U Test,, Pearson Correlation Coefficient ,T Test

RESULTS - Discussion - for all doses of any corticosteroid added, are observed , statistical differences , $p \leq 0.05$, in the precipitation for the proteins and mucins for Budesonide ,compared to the other two corticosteroids .This result ,is linked ,to the presence in Budesonide of two hydroxyl groups, (one in beclomethasone), increasing the formation of hydrogen bonds .The difference of Budesonide, compared to Fluticasone, is linked to the fact, that its insolubility in water ,is a parameter most important compared to the other ,as the hydrogen bonds, and Van der Waals forces which stabilize the complex (CCP. For all three corticosteroids, there is a saturation value, and, up to this value, there is a good correlation between dosage of corticosteroids, and the amount of mucin-precipitated (Pearson coefficient of 0.91

KEY WORDS : CORTICOSTEROID ; MUCIN;COMPLEX ; ORAL CAVITY ;LARYNX

ROMABIOMED RESEARCH , SENIOR RESEARCHER IN BIOCHEMISTRY

**DIRETTORE U.O.C. OTORINOLARINGOIATRIA

INTRODUCTION

Due to its anti-inflammatory properties , cortisone drugs are used successfully in the treatment of respiratory diseases such as asthma and pulmonary fibrosis. The pharmacology of corticosteroids is very complex, but it can be summed up with the enunciation of these activities:

1-a- interaction and formation of the glycosylated protein - corticosteroid complex - (CCP)

2-transport in inactivated form of the (CCP) on target cells

c- binding to cytoplasmic receptor complex, activation and penetration of (CCP) in the cells

d- with , its anti-inflammatory activity the (CCP) , enters the nucleus and interacts with DNA to inhibit activating gene transcription which produces the substances responsible for the principal inflammatory effects The complex, in addition, it is able to block the road .of training dI NFkB (nuclear factor kappa-light), thus improving the activity of the activated B cells.

In the blood, this process of formation and activation, which involves approximately eighty percent of the concentration of corticosteroid, is between the same drug ,(binding in position C19 and C 23), and a glycosylated protein, a member of a super family (serpin), which has high affinity for the transport for the complex in the blood.

This glycoprotein has about 30% of its mass, represented by chains of oligosaccharides N-linked), and analysis crystallographic has shown that the complex, "cortisol- protein " shows the typical conformation of the serpin with the Reactive Center Loop ,completely exposed. Corticosteroids can be coupled with other proteins and their affinity may vary considerably. In function of many parameters, these binding mechanisms have been studied in order to understand both the anti-inflammatory capacity of cortisone, either some of the possible side effects of such drugs. These variations actually depend not only on the type of chemical structure of cortisone compounds, but as has been shown recently, and perhaps more than that of proteins. In particular, they can occur naturally or less, changes / alterations in the glycosylation of serum proteins process, which involves a change in the percentage of the carbohydrate part .These changes affect the folding of the protein in a definitive manner with consequences in terms of possible catalytic activities of same. In the processes of interaction between proteins easily and corticosteroids thus they occur very easily in the blood. with the formation of a stable complex, and this can reasonably also occur in saliva, where many are the villages of glycosylated proteins. In this medium, saliva, there are globulins, such as those present in the blood, but others, which may even have even higher affinity with corticosteroids, and therefore can create

very stable complexes. This fact might change their functionality and their role, which is fundamental to the defense of the oral cavity and larynx. In a previous study (), we have shown, as salivary proteins interacted with two different corticosteroids, used as inhaled medications in people with asthma. These two corticosteroids, in fact interacting with salivary proteins have allowed the precipitation of a quantity that at therapeutic doses, has reached about 20.delle .The same protein-drug interactions, saliva, play a key role in pharmacokinetics and pharmaco-dynamic of drugs. In particular mucin interaction, which are the most important protein fraction with medication, it can have important effects on the absorption of the same. The mucus, in fact, is the first barrier that drugs must overcome to be adsorbed and access to the circulatory system), and its distribution, (only the free drug concentration can reach the target and produce a biological response). This means that a high bond can reduce the pharmaceutical effect of the drug. Beyond the types of nebulizers used in aerosol therapy, it should be noted that treatment with corticosteroids is not only associated with the winter season and the cold, but also to the spring, where the allergic reactions occur more frequently. Therefore, the constant use of corticosteroids may lead to an increase in side effects due to the latter, and they should be used with caution Corticosteroids medications for inhalation, often can cause hoarseness, with atrophy of the vocal cords, fungal lesions, and xerostomia. our hypothesis is that in fact, these interactions between proteins and corticosteroids, involving in fact the most important fraction of the oral mucus and saliva, ie, the mucins especially those secreted, MUC 7 and MUC5B, ()

Since the mucus / saliva, acts as a barrier, there are two main mechanisms that limit the diffusion, of the drugs ,for example there through interaction with its

components, with electrostatic, hydrophobic interactions ,with mucins and other salivary proteins), and finally those relating to the physical size of the mesh which are formed between protein and protein, to constitute a kind of filter. Many studies showed that no definitive picture of the nature of the molecular interactions between drug molecules and mucin components, can be in fact highlighted with absolute certainty, although the mechanism that is the basis of formation of the complex, has already been clarified in part , in a qualitative way, by means of spectrophotometric studies, ().

The UV-Vis spectroscopic analysis, has in fact shown that the drug prednisolone, is able to bind to the mucin to form a protein-drug complex. The data with fluorescence spectroscopy to show that the absorption in fluorescence of mucin, can be decreased, through the gradual addition of the study drug and that this is governed by a "cooling" in the dynamics of interaction between mucin and prednisolone, and specifically, according to the thermodynamic parameters, with the increase of hydrophobic interactions, with the possible formation of hydrogen bonds, and finally with the forces of van der Waals, .All these parameters can play an important role in stabilizing the mucin-prednisolone complex .Purpose of this our study, is to obtain quantitative data, of these interaction processes., checking, any differences between the different corticosteroids ee possibly between the salivary total protein, and mucin fraction, according to the precipitated amount of the same.

MATERIALS AND METHODS

the whole saliva samples, 10 ml, were provided by a male volunteer of 30 years old, non-smoker, and without cardiovascular disease. The amount of saliva used for each individual test, is the one that the patient produces, in the average time for an aerosol therapy.

In saliva samples before and after the addition of corticosteroids, they were determined the concentrations of total protein by the biuret method, the pH with digital ECO, while for the assay of total salivary mucins are used Alcian Blue Method

Three samples of corticosteroids, have been used, and their property / commercial characteristics are as follows:

Beclometasone dipropionate-1: 0.8 mg / 2 ml of suspension is nebulized aerosol; single-dose vials of 2 ml aerosol Composition 100 ml of sterile suspension containing: active ingredient: beclometasone dipropionate 0.040 g. Excipients: Sodium chloride; Polysorbate 20; sorbitan monolaurate; Water for injections

2- Budesonide 0.5 mg / ml nebulizer suspension 1 single-dose container contains: Active ingredient: 1 mg busedonide

3 Fluticasone inhalation powder 100, 250 and 500 micrograms of fluticasone propionate for pressurized inhalation, suspension from 50, 125, 250 mcg of fluticasone propionate

After the addition of corticosteroids, the saliva, the same samples were subjected to centrifugation at 4000 rpm for two minutes, in the supernatant were determined, the mucin and the total protein content. The results are statistically analyzed with Mann-Whitney U test, and Pearson correlation coefficient of

Mann-Whitney U test is a nonparametric test that allows to compare two groups or conditions, without making the assumption that the values are normally distributed

Requirement: the data is continuous, the scale of measurement should be ordered, the range of the total values is used

Coefficient of Pearson correlation: useful for measuring the strength of the linear association between two variables, where $r = 1$ indicates a perfect positive correlation and the value $r =$

For the difference of the precipitation of mucins by the three corticosteroids they are analyzed statistically with T-test, two-tailed, identically variance, and one tailed difference variance

RESULTS

TABLE 1 AMOUNT OF BECLOMETASONE AND PERCENTAGE OF PRECIPITATION OF PROTEINS AND MUCINS

BECLOMETASONE mg	TOTAL SALIVARY PROTEIN S Initial concentration in saliva mg/dL =33		TOTAL SALIVARY MUCINS Initial concentration in saliva mg/dL = 50		SALIVA cc
	Proteins in surnatant mg/dL	% precipitation	Mucins in surnatant mg/dL	% precipitation	
0	31.4.1	5	4.8	4	10
0.2	31	6.1	4.7	6	10
0.5	30	9.1	4.5	10	10
0.8	28	15.2	4.2	13	10
1	26	21,2	4	17	10
1.2	25.5	22.7	3.8	21	10
1.4	25	24,4	3.7	24	10
1.6	24.8	24.8	3.6	26	10
1.8	24	27.2	3.5	28	10
2	24	27.2	3.5	29	10
2.5	24	27.2	3.5	30	10
3	24	27.2	3.5	30	10

RESULTS OF STATISTICAL ANALYSIS :

MANN-WHITNEY U TEST BECLOMETASONE : TOTAL PROTEINS VS TOTAL MUCINS

The U-value is 59.5. The critical value of U at $p < .05$ is 45; the result is not significant at $p < 0.05$.

The Z-Score is -1.23443. The p-value is 0.2187. The result is not significant at $p < 0.05$

FIGURA 1 : BECLOMETASONE : CHEMICAL STRUCTURE

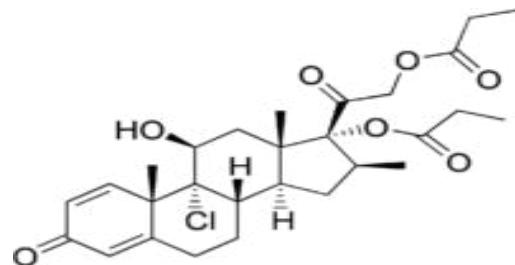


TABELLA 2 – AMOUNT OF BUDESONIDE AND PERCENTAGE OF PRECIPITATION OF PROTEINS AND MUCINS

BUDESONIDE mg	TOTAL SALIVARY PROTEINS Initial concentration in saliva mg/dL = 350		TOTAL SALIVARY MUCINS Initial concentration in saliva mg/dL = 50		SALIVA cc
	Proteins in surnatant mg/dL	% precipitation	Mucins in surnatant mg/dL	% precipitation	
0.1	340	3	48	4	10
0.2	330	5.7	47	6	10
0.5	310	13.4	46	12	10
0.8	290	18.9	43	17	10
1	280	22,2	41	20	10
1.2	270	23.7	38	24	10
1.4	250	25,4	37	26	10
1.6	240	26.8	36	28	10
1.8	240	27.2	35	30	10
2	240	27.2	35	30	10
2.5	240	27.2	35	30	10
3	240	27.2	35	30	10

RESULTS OF STATISTICAL ANALYSIS:

MANN-WHITNEY U TEST for BUDESONIDE : TOTAL PROTEINS V VS TOTAL MUCINS

The U-value is 58. The critical value of U at $p < .05$ is 37 ;the result is not significant at $p < .05$.

The Z-Score is -0.77942. The p-value is .4354. The result is not significant at $p < .05$.

FIGURA 2 ; BUDESUNIDE : CHEMICAL STRUCTURE

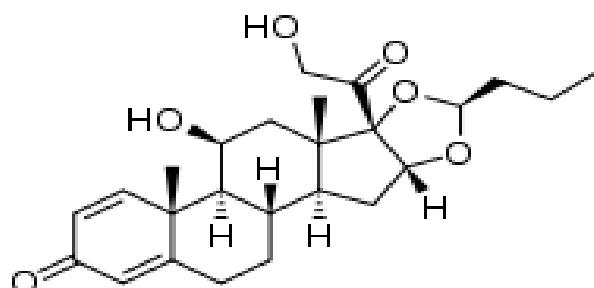


TABELLA 3 - AMOUNT OF FLUTICASONE AND PERCENTAGE OF PRECIPITATION OF PROTEINS AND MUCINS

FLUTICASONE mg	TOTAL SALIVARY PROTEINS: initial concentration in saliva mg/dL = 35		TOTAL SALIVARY MUCINS initial concentration in saliva mg/dL = 5		SALIVA cc
	Proteins in I surnatant mg/dL	% precipitation	Mucins in surnatant mg/dL	% precipitation	
0.1	350	0	50	0	10
0.2	343	1	50	0	10
0.5	342	2	48,5	3	10
0.8	336	4	47,5	5	10
1	335	4	.47	6	10
1.2	325	8	47	6	10
1.4	319	9	45	10	10
1.6	315	10	45	10	10
1.8	315	10	45	10	10
2	315	10	45	10	10
2.5	315	10	45	10	10
3	315	10	45	10	10

RESULTS OF STATISTICAL ANALYSIS

MANN-WHITNEY U TEST FLUTICASONE :TOTAL PROTEINS VS TOTAL MUCINS

The U-value è 68. Critical value of U for p < .05 is 37. the result is not significant at p < .05.

The Z-Score è -0.20207.; p-value =0 .84148. the result is not significant at p < .05

FIGURA 3 - FLUTICASONE CHEMICAL STRUCTURE

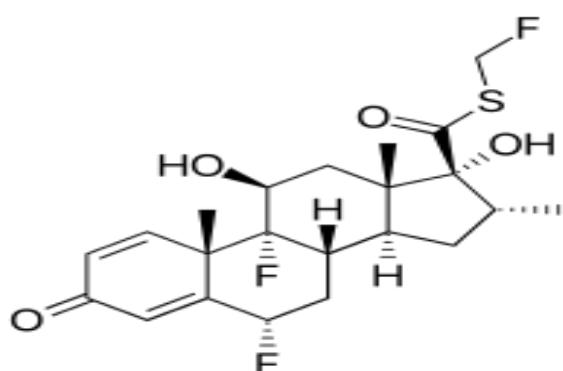


TABLE 4: CORTICOSTEROIDS AND SALIVARY MUCINS PRECIPITATION

BECLOMETASONE		BUTESOMIDE		FLUTICASONE	
mg	% mucins Precipitation	mg	% mucins Precipitation	mg	% mucins Precipitation
0.1	4	0.1	4	0.1	0
0.2	6	0.2	6	0.2	1
0.5	10	0.5	12	0.5	2
0.8	13	0.8	16.5	0.8	4
1	17	1	20	1.0	4
1.2	21	1.2	24	1.2	8
1.4	24	1.4	26	1.4	9
1.6	26	1.6	28	1.6	10
1.8	28	1.8	30	1.8	10
2.0	29	2.0	30	2.0	10
2.5	30	2.5	30	2.5	10
3.0	30	3.0	30	3.0	10
AVERAGE mg 13.4	AVERAGE of Precipitation 19.8 %	AVERAGE mg 13.4	AVERAGE of Precipitation 21.5 %	AVERAGE mg 13.4	Average of Precipitation 5.8 %

TEST T BUDESONIDE Vs BECLOMETASONE T-Test Calculator for 2 Independent Means

;p = 0.334 ; p ≥ 0.05

TEST T BECLOMETASONE VS FLUTICASONE The value of t is 8.111374. The value of p is < 0.00001. The result is significant at p ≤ 0.05.

TEST T BUDESONIDE VS FLUTICASONE ; The t-value is -3.79393. p-value = 000882. The result is significant at p ≤ 0.05.

PEARSON CORRELATION COEFFICIENT ; mg Beclometasone Vs % Mucins precipitation

The Value of R is 0.940. This is a strong positive correlation

PEARSON CORRELATION COEFFICIENT ; mg BUDESONIDE Vs % Mucins precipitation

The Value of R is 0.904) . This is a strong positive correlation

PEARSON CORRELATION COEFFICIENT mg FLUTICASONE Vs Mucins precipitation

The Value of R is 0,8912. This is a strong positive correlation

PEARSON CORRELATION COEFFICIENT

(LEGEND) X VALUE mg Corticosteroid

FIGURE 1 BECLOMETASONE

Y VALUE % Mucins

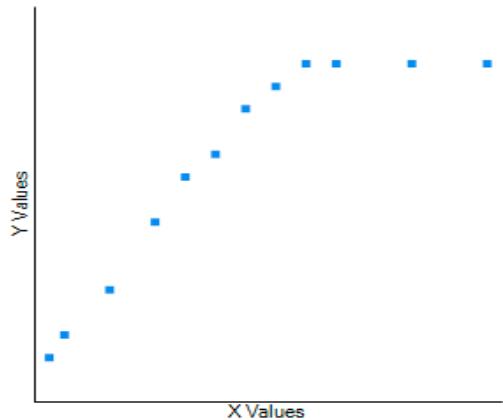


FIGURE 2 BUDESONIDE

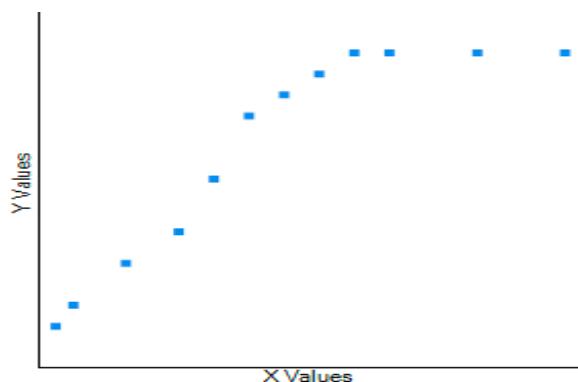
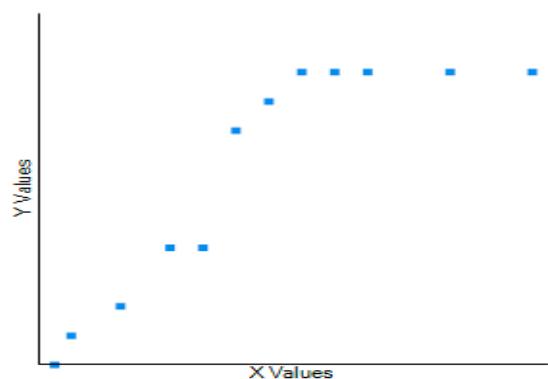


FIGURE 3 FLUTICASONE



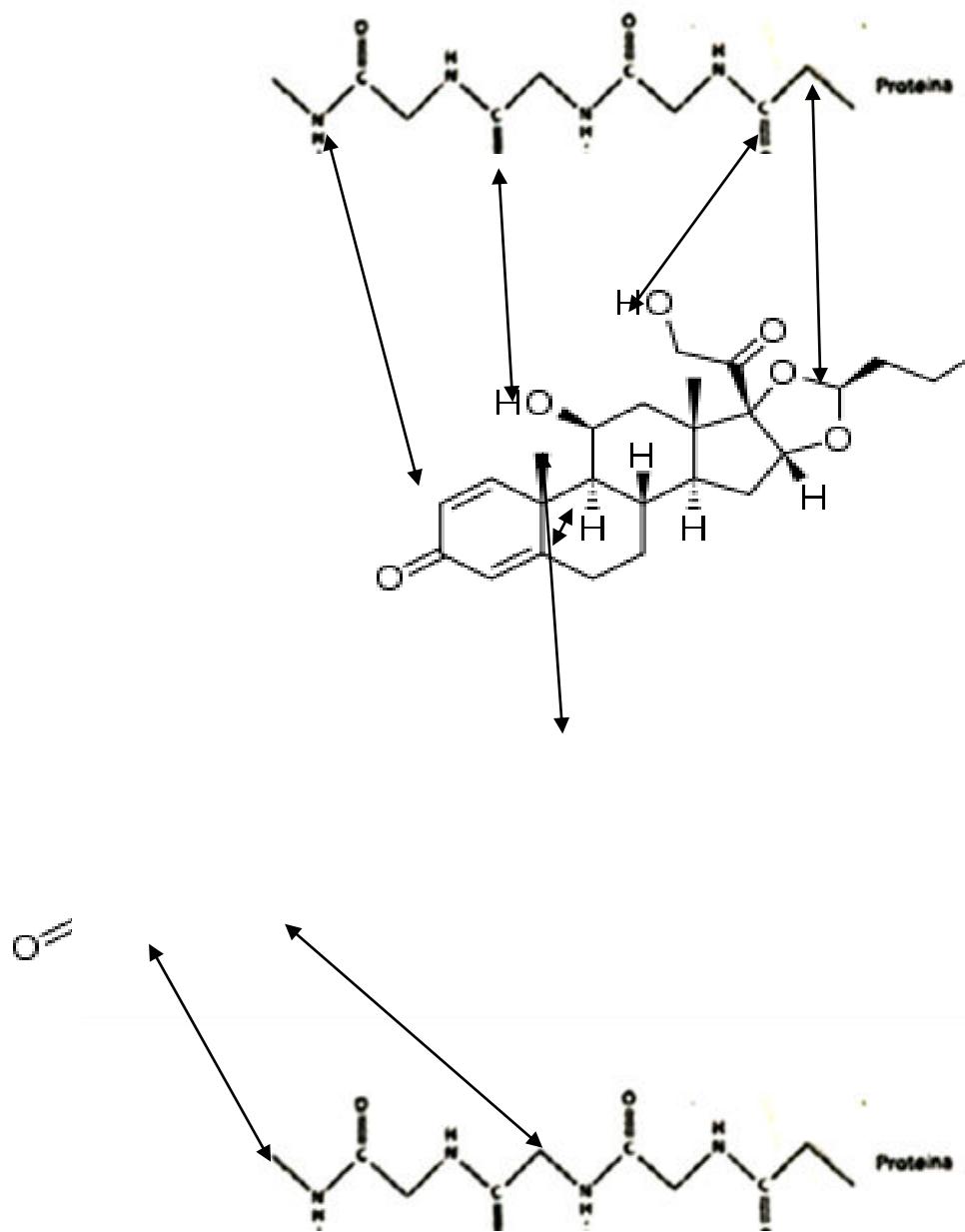
DISCUSSION

The above results confirm the results of our previous study, although the amount of the precipitated proteins from the beclomethasone and budesonide, are a little less .. In particular, in reference to the previous results, it is evident that in this time , the amount of mucins and salivary proteins precipitated .that, is due to the addition of budesonide, is more high This difference, has a constant trend, see Table 1 and 2, for all doses, added of the corticosteroids; experimentally, compared to the previous study, the corticosteroid added to saliva was highly dispersed with a micro vibrator, after the suspension that is obtained, see photos 1, it was centrifuged for two minutes at 4000 rpm and not allowed to decant, thus obtaining a supernatant. absolutely clear see photo 2 These results, however, may be to find a logical explanation, assuming that the main forces that govern the process of interaction that leads to the formation and stabilization of the protein-corticosteroid complex, are hydrogen bonds, hydrophobic interactions and van der Waals forces. These can play an important role in stabilizing -corticosteroid complex proteins, such as occur, for example, when you add in the saliva polyphenol compounds, (), with the result that even a small concentration of the same, there is the total protein precipitation, () .In this case a fundamental rule is two hydrogen bonds that develop between the hydroxyl groups (OH) of polyphenol and carbonyl (C = O), amino acids of the proteins

In the budesonide in reality there are two hydroxyl groups, one only in the beclometasone, see figures and an equal solubility in an aqueous environment, solubility which is still very low: this fact may justify the results of Tables 1,2,4. The precipitation data, detect low concentration both in the precipitation of the proteins ,as of the mucins, with not statistically significant differences compared to that Budesonide and Beclometasone, versus Fluticasone and this depends practically by the insolubility of this corticosteroid in an aqueous environment .All factors mentioned above, make that all corticosteroids compounds can easily interact with proteins and also with mucins modifying the characteristic of their colloidal structure(see figure 4 ,with the hypothetical structure of the same).

.These take the form of polymers dispersed in saliva, with the physical properties of colloids and in particular their stability in the dispersing phase, in our case the saliva, it depends on the electrical double layer that characterizes the interface double layer protein, or generated by electrical potential, called Z. the potential formation of bonds between a single molecule corticosteroids protein and a colloidal particle deforms the latter structure, change the interface of the double layer, changing the Z potential and has the precipitation. The results expressed in 1, 2.3 tables, also show that there are no statistically significant differences in the amounts of precipitated proteins, compared to mucins, and this indicates that the glycosylated part of it, is irrelevant , probably because the glucidic structure interaction processes, removes water to the system, with a solvation process that tends to isolate the protein part. This fact, together with the low solubility of corticosteroids, almost nothing to Fluticasone, the system leads to a rapid saturation, practically for a 1.6 mg dosage, as you can see from the figures and from the respective tables

FIGURE 4 HYPOTETICAL STRUCTURE OF THE COMPLEX WITH THE PRINCIPAL BONDS



REFERENCES

- 1 Chuang CK, Lin HY, Wang TJ, Tsai CC, Liu HL, Lin SP (2014). A modified liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for predominant 6isaccharide units of urinary glycosaminoglycans in patients with mucopolysaccharidoses. *Orphanet J Rare Dis.* Sep 2;9:135
- 2_ Gardill BR, Vogl MR, Lin HY, Hammond GL, Muller YA,; *PloS One.*(2012). 7(12): Dec 3 Mickelson KE ,et al ,1981,Steroid –protein interaction .Human corticosteroid binding globulin:some physicochemical properties and binding capacity .*biochemestry* ,Oct 13 ;20(21);6211-8
- 4-Westphal, 1978 Westphal U (1978). *Steroids –Proteins Interaction ISBN-13-78-978*.Springer –Venlag Ed
- 5-, Avvakumov GV, Grishkovskaya I, Muller YA, Hammond GL (2002). Crystal structure of human sex hormone-binding globulin in complex with 2-methoxyestradiol reveals the molecular basis for high affinity interactions with C-2 derivatives of estradiol. *J Biol Chem.* Nov 22;277(47):45219-25
- 6- S; Ali S, Bassett JR (1995). Studies on the role of glycosylation in the origin of the electrophoretic variants for rat corticosteroid-binding globulin. *Steroids.* Nov;60(11):743-52
- 7-Menicagli R ,Duca M Arizzi C,Merit Journ. Resech, 2016 Vol. 4(2) pp. 127-132, February
- 8- Gibbins HL (2014). Concentration of salivary protective proteins within the bound oral mucosal pellicle. *Oral Dis.* Oct; 20(7):707b
- 9- Pontremoli C Barbero N,Viscardi G,Visentin S,2015.Mucin-drugs interaction:the case of theophylline ,prednisolone and cephalexin.*Biorg Med Chem*,Oct 15,23(20):6581-6
- 10 Navarrete B A,et al , 2015,Effects of inhaled corticosteroids on saliva composition :a cross sectional study in patient with bronchial asthma.*Clin Drug Investig*,sept,35(9),569-74
- 11- Menicagli R, Duca M, Rancoita PMV (2016). Traditional Food Habits and their Possible Relationship in Diseases of the Mouth: The Useof Paprika MR Journal, Jan ,pp 1-7

12- Menicagli, R., Duca, M., Rancoita, P. M. V. and Arizzi, C. E, 2016 The influence of the mucins in genetic balance in oral and laryngeal cancer and by their biochemical behaviour a working hypothesis for their care, International Journal of Current Research Vol. 8, Issue, 04, pp. 29800-29806,

PHOTO 1 INITIAL FORMATION OF THE CORTICOSTEROID- PROTEIN COMPLEX



PHOTO 2 THE PRECIPITATION AND THE SEPARATION OF THE COMPLEX



Scialocele post-traumatico del dotto parotideo: case report

G. Terranova; M. Vendettuoli; M. Peccanti; G. Aloisi *; A. Carissimi

UOC ORL Ospedale "A. Cardarelli"- Campobasso

*UOC Anestesia e Rianimazione Ospedale "A. Cardarelli"- Campobasso

ABSTRACT: lo scialocele del dotto parotideo di Stenone • una raccolta che si origina dallo stravaso di saliva nei tessuti ghiandolari e perighiandolari conseguentemente ad una lesione del dotto o del parenchima parotideo.

Traumi facciali o chirurgica parotidea sono le cause più comuni della malattia.

La formazione di una fistola può verificarsi, spesso con drenaggio extra-orale.

Gli autori riportano un caso di scialocele parotideo conseguente ad un trauma facciale maggiore (ferita profonda da motosega) risoltosi dopo posizionamento di drenaggio intraduttale per 20 gg.

KEYWORDS: parotid duct injury; sialocele; catheterization

INTRODUCTION: le tumefazioni facciali possono essere dovute ad un gran numero di cause.

Una tumefazione facciale dopo un trauma o dopo chirurgia può essere uno scialocele ed esso spesso viene confuso con edema o ematoma post-traumatico(1).

Lo scialocele è una lesione acquisita determinata da un trauma diretto sul parenchima parotideo o dalla lacerazione del dotto salivare(2)

Approcci chirurgici e non chirurgici sono entrambi utilizzati come modalità di trattamento

Una fistola a drenaggio extraorale spesso si evidenzia.

Gli autori riportano il caso di uno scialocele insorto dopo una profonda ferita della faccia.

La cateterizzazione del dotto parotideo è una tecnica miniinvasiva che consente di ottenere buoni risultati con una bassa morbidità (3).

CASE REPORT

Un paziente maschio di 75 anni giunse al PS del ns Nosocomio con una profonda ferita del lato sinistro del volto da trauma accidentale provocato da una motosega un'ora prima.

Al momento della prima visita il paziente presentava un deficit del VII paio di NC (III grado HB), scarso sanguinamento e nessuna evidenza di secrezione salivare nel campo operatorio.

La ferita lacero-contusa era profonda 3-4 cm e lunga 15-16 cm estendendosi dalla regione zigomatica a quella sottomentale.

In anestesia locale venne effettuata la sutura per piani

Dopo 3 giorni il paziente evidenziò una fistola salivare con drenaggio cutaneo

Il paziente era in buone condizioni generali e non febbre.

L'aspirazione percutanea giornaliera di saliva e medicazionipressive per una settimana non migliorarono il quadro clinico.

Fu iniziata un'alimentazione parenterale e fu iniziata la somministrazione di farmaci anti-scialogoghi.

Al 12 mo giorno fu posizionato l'involucro di un ago-cannula nel dotto di Stenone intraoralmemente (Fig. 2)

La cannula fu fissata alla mucosa buccale con filo di sutura tipo Vicryl N.2 .

Il catetere fu mantenuto per 3 settimane ma già il primo giorno dopo la caterizzazione la tumefazione era scomparsa e la fistola non era più drenante.

DISCUSSIONE

I traumatismi della regione parotidea e masseterina posono causare gravi conseguenze derivanti dal danno di importanti strutture anatomiche.

Lacerazioni della regione masseterina-parotidea può causare danno al nervo facciale, all'arteria trasversa della faccia, ed alla ghiandola parotide(1).

Il coinvolgimento della ghiandola in traumatismi facciali non è comune e spesso è associato a fratture dello scheletro facciale. Tuttavia i traumi del dotto parotideo

causano accumulo di saliva nei tessuti adiacenti , fenomeno conosciuto come scialocele(4).

La review della letteratura evidenzia circa 100 casi descritti (1,5,7)

L'età media è di 45,9 anni, con una prevalenza nel sesso femminile (65,8%). Nel ns caso il paziente era un uomo di 75 anni.

La predilezione nel sesso femminile dovunque riportata è generalmente associata all'exeresi di un tumore parotideo (5,6,7)

Il paziente del report mostrava una tumefazione con lento, progressivo incremento volumetrico della regione parotidea nei tre giorni successivi al trauma(8).

IN quarta giornata, una fistola salivare con drenaggio esterno comparve.

Non erano presenti segni o sintomi di infezione. La diagnosi differenziale delle masse a rapida crescita della regione parotidea includono le malattie infiammatorie acute, come la scialolitiasi, le parotiti virali retrograde ed anche lo scialocele. Solo lo scialocele è relazionato ad un trauma precedente

I segni obiettivi clinici sono già sufficienti per la diagnosi. Per meglio caratterizzare la lesione, esami come TC, ecografia e Risonanza Magnetica sono ampiamente utilizzate.

Lo sviluppo di nuove tecniche diagnostiche, come la scialografia RM e le tecniche endoscopiche ha considerevolmente ottimizzato la diagnosi(1,9,10). Questi esami non sono disponibili c/o il ns Ospedale.

Il trattamento dello scialocele include prevalentemente trattamenti conservativi (73,6%) oltre che metodi invasivi (26,4%)(9,10,11).

La scelta del trattamento dipende dal tempo trascorso dal trauma, dalla sede della lesione, dal tipo di trauma e dall'esperienza del chirurgo.

Il paziente deve essere trattato quanto prima possibile. Solo nel caso di perdita importante di struttura ghiandolare o quando il paziente ha traumi multipli o maggiori, il trattamento può essere rinviato (13)

L'aspirazione percutanea, l'applicazione di compressione e l'uso di farmaci antiscialogoghi sono i primi approcci conservativi generalmente utilizzati (8,10).

La nutrizione parenterale è utilizzata come terapia adiuvante. L'iniezione di tossina botulinica è stata descritta come trattamento non invasivo per la scialorrea, per la sindrome di Frey ed anche per lo scialocele(14,15).

Tuttavia molti casi non rispondono positivamente a questi trattamenti e necessitano pertanto di procedure complementari invasive , come nel caso prescritto.

Le procedure invasive comprendono (16)

- incannulazione di un nuovo dotto salivare
- radioterapia a basso livello per l'induzione della fibrosi ghiandolare
- parotidectomia parziale e totale
- neurectomia timpanica per bloccare l'innervazione parasimpatica

L'incannulazione di un nuovo dotto parotideo è un metodo efficace, a basso costo con un basso tasso di complicanze ed è stato metodo di scelta nel ns caso (9,12).

E'associato a scarsa morbidità e basso tasso di complicanze. Il paziente ha mantenuto il drenaggio per 21 giorni e attualmente dopo 8 mesi nessuna recidiva è stata evidenziata (Fig. 3).

In conclusione, lo scialocele della ghiandola parotide è una malattia che origina da un trauma penetrante facciale. L'uso di più modalità di trattamento conservative è indicato come prima opzione. L'incannulazione del dotto della ghiandola è il trattamento di scelta con bassa invasività, grande tollerabilità e buoni risultati.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Akinbami BO. Traumatic disease of parotid gland and sequelae. Review of literature and case reports. *Niger J Clin Pract* 2009;12:212-215
- 2) Pereira KD, Smith SL, Mitchell RB. Parotid sialocele in a 10-years old girl. *Ear Nose Throath J* 2007; 86:27-28.
- 3) Lisan Q, Raynal M, Pons Y, Kossowski m. Chatheterization of post-traumatic parotid duct sialocele *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis* 2014 ; Nov 131(5) :317-318.
- 4) Kretrlow J.D., Mc Knight A. J. , Izaddost S.A. Facial soft tissue trauma. *Semn. Plast. Surg.* 2010; 24:348-356
- 5) Witt RL . The incidence and management of sialocele after parotidectomy. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2009; 140: 871-874
- 6) Marchese-Ragona R., De Filippis C., Marioni G., Staffieri A. Treatment of complications of parotid gland surgery. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 2005; 25:174-178
- 7) Upton DC, Mc Namar JP, Comr NP, Larari PM, Harting CK. Parotidectomy : ten years review of 237 cases at a single institution. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2007; 136: 788-792
- 8) R Nagi, YBR Kantharaj, R Nagaraju, SJ R Reddy. Sialocele of Parotid duct: Report of Case with Review of literature *J Clin Diagn Res* 2016 Feb 10(2) ZD04-ZD05.
- 9) Sulabha AN, Sangamesh NC, Neelakant Warad, Athesham Ahmad. Sialocele: an unusual case report and its management. *Indian Journal of dental Research* 2011; 22: 336-339
- 10) S. N. Aloosi, N Khoshnaw, S.M. Ali and B. Muhammad, Surgical management of Tensons's duct injury by using double J stent urethral catheter. *Int J Surg Case Rep* 2015; 17: 75-78.
- 11) Donoso T, Domancic S, Argandona J. Delayed treatment of parotid sialocele: a functional approach and review. *J Oral Maxillofac Surg* 2015; Feb; 73(2): 284-90.
- 12) Capaccio P, Cuccarin V, Beniccio V, Minorati P, Spadari F, Ottaviani F. Treatment of iatrogenic submandibular sialocele with botulinum toxin: case report. *Br J Oral Maxillofacial Surg* 2007; 45: 415-417
- 13) Jeffe JS, Sulman CG. The use of botulinum toxin B in the treatment of a post-traumatic sialocele in a 44-year-old child: a case report. In *j Pediatr Otorhinolaryngol* 2015; 79(12): 2446-9.
- 14) Srinidhi D., Singh M., Rangaswamy S., Choudry S. Parotid sialocele and fistulae: current treatment options. *Int J Contemp. Dent* 2011; 2: 9-12

Post-traumatic sialocele of parotid duct: report of a case

G. Terranova; M. Vendettuoli; M. Peccanti; G. Aloisi *; A. Carissimi

UOC ORL Ospedale "A. Cardarelli"- Campobasso

*UOC Anestesia e Rianimazione Ospedale "A. Cardarelli"- Campobasso

ABSTRACT: parotid duct sialocele is a salivary cavity arising from extravasation of saliva into glandular or periglandular tissues secondary to lesion of parotid duct or parenchyma. Facial trauma and surgery is the most common cause of this disease.

Fistula formation may occur, often draining extraorally.

We report a case of parotid sialocele after a big facial trauma (deep wound by chain saw) managed by placement of a vein cannula for twenty days.

KEYWORDS: Parotid duct injury; Sialocele; Catheterization

INTRODUCTION

Facial swelling can be due to wide range of causes.

A facial swelling after a trauma or after surgery can be a sialocele and it is often misdiagnosed as hematoma or hoedema (1)

Sialocele is an acquired lesion that results from trauma of parotid parenchyma or laceration of parotid duct (2)

Both surgical and nonsurgical approaches are accepted as modalities of treatment.

Fistula often developed draining extraorally.

The author reports a case of sialocele after deep woudl of the face.

Intraoral parotid duct catheterization is a minimally invasive technique providing good results with low morbidity as performed in this case(3)

CASE REPORT

A 75 years-old male patient presented at PS of our Hospital with a deep wound of left side of the face after accidental exposure to a chainsaw one hour before.

At the admission the patient a deficit of VII cranic nerve (III gr HB), little blending, and no evidence of salivary secretion the operation field.

On examination a 3-4 cm deep and 15-16 cm length lacerated wound was found from zygomatic region until submental region (Fig.1)

Under local anesthesia the suture was made.

After 3 days the patient presented salivary fistula with extraoral spillage.

The patient appeared generally well and was afebrile.



Daily percutaneus aspirations of fluid and compress medication for 1 week did not improve the condition. Also a parenteral nutrition was started and anti-sialogog drugs was administered. On the postoperative days 12, scalp vein cannula was introduced into the Stensen duct intraorally. (Fig 2)

Scalp vein cannula was secured with buccal mucosa with sutures (Vicryl N. 2) with allowed drainage of the fluid into the oral cavity (Fig.2)



The tube was maintained for 3 weeks but on the first day after the catetherization the swelling desappaired and the fistula was closed

DISCUSSION

Injuries in the parotid and masseter region can cause serious impairment secondary to damage of important anatomical structures.

Lacerations in the parotid-masseter region can cause damage to the facial nerve, traverse artery of the face and parotid gland (1)

Involvement of this gland in episodes of facial trauma is uncommon and often associated to fracture of facial skeleton. However injury of the parotid duct causes accumulation of salivary secretion in the adjacent soft tissue, phenomenon known as sialocele (4)

The review of literature revealed about 100 cases described(1,5,7)

The mean age is 45,9 years, with a prevalence in female sex (65,28%). In our case the patient is a male 75 years old.

The predilection in the female gender has been previously reported elsewhere is currently associated with tumor excision(5,6,7)

The patient of the report showed a swelling with a slow, progressive increased volume in the left parotid-masseter region in the three day following the trauma(8).

In the Forth day from trauma, a salivary fistula with extraorally effusion appeared. Non signs or symptoms of infection were present. Diagnosis of rapid growing masses of the parotid region include acute inflammatory disease, such as sialolithiasis, retrograde and viral parotitis, as well as sialocele. Only sialocele is related to a previous trauma.

The clinical signs are sufficient for a diagnosis. To better characterize lesions, examination such as CT scan, ultrasound and Magnetic Resonance are widely used. The development of new diagnostic tools, such as sialografic MR and endoscopic technique has considerably optimized the diagnosis. These exams are unavailable in our Hospital(1,9,10).

Treatment of sialocele includes a predominant use of conservative treatment (73,6%) over more invasive methods (26,4%) (9,10,11)

The choice of the treatment depends from time elapsed since injury, gland side affected, trauma mechanism and experience of the surgeon.

The patient has to be treated as soon as possible. Only in the case of loss of gland structure or when the patient has multiple injuries or major trauma, the treatment can be delayed (13).

Percutaneous aspiration, compress application and use of antisialogogue drugs are the first conservative approaches usually used(8,10).

The use of parenteral nutrition is used as adjuvant therapy. Botulinum toxin injection has been described as non invasive treatment for sialorrhea, Frey's syndrome and also for sialocele (14,15)

However a lot of cases do not respond positively to such treatment and for these are needed more invasive complementary procedure, as in the case here described.

The invasive procedures include (16)

- cannulation of a new salivary duct
- low-level radiotherapy of the induction of gland fibrosis
- partial or total parotidectomy
- Tympanic neurectomy to blocked parasympathetic enervation

Cannulation of a new parotid duct is a quite effective, low-cost method with a low-rate of complications and has been the choice method for our case (9,12).

It is associated with low- discomfort and low rate of complications. The patient has maintained the drainage for 21 days and actually, after eight month no recurrence was



detected (Fig. 3)

In summary, sialocele of the parotid gland is a disease that originates from penetrating facial trauma. The use of more conservative treatment modalities is indicated as first option. Cannulation of parotid gland is the choice treatment, low invasive and with great tolerability and good results.

BIBLIOGRAPHY

- 1) Akinbami BO. Traumatic disease of parotid gland and sequelae. Review of literature and case reports. *Niger J Clin Pract* 2009;12:212-215
- 2) Pereira KD, Smith SL, Mitchell RB. Parotid sialocele in a 10-years old girl. *Ear Nose Throat J* 2007; 86:27-28.
- 3) Lisan Q, Raynal M, Pons Y, Kossowski m. Chatheterization of post-traumatic parotid duct sialocele *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis* 2014 ; Nov 131(5) :317-318.
- 4) Kretrlow J.D., Mc Knight A. J. , Izaddost S.A. Facial soft tissue trauma. *Semn. Plast. Surg.* 2010; 24:348-356
- 5) Witt RL . The incidence and management of sialocele after parotidectomy. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2009; 140: 871-874
- 6) Marchese-Ragona R., De Filippis C., Marioni G., Staffieri A. Treatment of complications of parotid gland surgery. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 2005; 25:174-178
- 7) Upton DC, Mc Namar JP, Comr NP, Larari PM, Harting CK. Parotidectomy : ten years review of 237 cases at a single institution. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2007; 136: 788-792
- 8) R Nagi, YBR Kantharaj, R Nagaraju, SJ R Reddy. Sialocele of Parotid duct: Report of Case with Review of literature *J Clin Diagn Res* 2016 Feb 10(2) ZD04-ZD05.
- 9) Sulabha AN, Sangamesh NC, Neelakant Warad, Athesham Ahmad. Sialocele: an unusual case report and its management. *Indian Journal of dental Research* 2011; 22: 336-339
- 10) S. N. Aloosi, N Khoshnaw, S.M. Ali and B. Muhammad, Surgical management of Tensons's duct injury by using double J stent urethral catheter. *Int J Surg Case Rep* 2015; 17: 75-78.
- 11) Donoso T, Domancic S, Argandona J. Delayed treatment of parotid sialocele: a functional approach and review. *J Oral Maxillofac Surg* 2015; Feb; 73(2): 284-90.
- 12) Capaccio P, Cuccarin V, Benicchio V, Minorati P, Spadari F, Ottaviani F. Treatment of iatrogenic submandibular sialocele with botulinum toxin: case report. *Br J Oral Maxillofacial Surg* 2007; 45: 415-417
- 13) Jeffe JS, Sulman CG. The use of botulinum toxin B in the treatment of a post-traumatic sialocele in a 44-year-old child: a case report. *In j Pediatr Otorhinolaryngol* 2015; 79(12): 2446-9.
- 14) Srinidhi D., Singh M., Rangaswamy S., Choudry S. Parotid sialocele and fistulae: current treatment options. *Int J Contemp. Dent* 2011; 2: 9-12



è inserita:

- in DOAJ (*Directory of Open Access Journals*,
<http://www.doaj.org>)
- nel database mondiale delle riviste on-line
- nell'elenco delle riviste scientifiche italiane
- nel database locale della biblioteca digitale SFX
(*Sistema Bibliotecario di Ateneo*) a disposizione
dell'Università di Napoli "Federico II"
- il titolo "*Frontiera ORL*" è inserito, da tempo,
nell'autorevole ACNP (*Archivio Collettivo Na-
zionale dei Periodici*)

is included:

- in DOAJ (*Directory of Open Access Journals*,
<http://www.doaj.org>)
- in the global database of Italian scientific
journal on-line
- in the italian scientific journals
- in the digital library SFX (*university library
system*) fully accessible to the University of
Naples "Federico II"
- the title "*Frontiera ORL*" is included in the
ACNP (*Periodicals Archive National Collective*)



Frontiera ORL

Frontiera ORL pubblica le migliori esperienze nel campo delle scienze mediche e chirurgiche concernenti soprattutto la patologia testa-collo. Promuove l'interazione tra professionisti sul territorio nazionale e internazionale, oltre che l'organizzazione di corsi e convegni.

Frontier ORL publishes the best experiences in the field of medical sciences and surgical pathology on the head and neck.

Promoting interaction between professionals on national and international territory.