
UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "IULIU HAȚIEGANU" CLUJ-NAPOCA

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Tratamentul intratimpanic în terapia sindroamelor cohleo- vestibulare

Doctorand **Felician Dorin Chirteș**

Conducător de doctorat Prof.dr. **Silviu Albu**

CUPRINS

INTRODUCERE	13
--------------------------	----

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

1. Sistemele de barieră labirintice	17
1.1 Fereastra rotundă	17
1.2 Bariera hemato-labirintică și microvascularizația urechii interne.....	17
1.3 Bariera LCR-labirintică	19
2. Mecanismele homeostaziei lichidelor labirintice	21
3. Farmacocinetica intralabirintică	25
4. Metode de administrare a tratamentului în urechea internă	33
4.1 Tratamentul intratimpanic pasiv	34
4.1.1 Polimerii degradabili intratimpanici.....	34
4.1.2 Hidrogelurile intratimpanice	35
4.1.3 Nanoparticulele	35
4.2 Tratamentul intratimpanic activ	37
4.2.1 Microcateter în fereastra rotundă	38
4.2.2 Micromeșa Silverstein	39
4.2.3 Pompa osmotică	39
4.2.4 Dispozitive complet implantabile	39
4.3 Tratamentul intracohlear	40

CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

1. Obiective generale	45
2. Studiul 1. Aspecte clinice și farmacologice ale terapiei sindroamelor cohle-vestibulare prin administrarea intratimpanică a medicației	47
2.1 Introducere	47
2.2 Obiectivele studiului	48
2.3 Material și metodă	48
2.4 Rezultate	48
2.5 Discuții	53
2.6 Concluzii	55
3. Studiul 2. Prevenția și tratamentul hipoacuziei asociate chimioterapiei cu cisplatin	57

3.1	Introducere.....	57
3.2	Obiectivele studiului.....	57
3.3	Material și metodă.....	58
3.4	Rezultate.....	58
3.5	Discuții.....	69
3.6	Concluzii.....	76
4.	Studiul 3. Eficiența și siguranța crioterapiei în menținerea patenței orificiului de miringotomie la șobolan.....	77
4.1	Introducere.....	77
4.2	Obiective.....	77
4.3	Material și metodă.....	77
4.4	Rezultate.....	79
4.5	Discuții.....	81
4.6	Concluzii.....	82
5.	Studiul 4. Dexametazona intratimpanică plus melatonină versus melatonină în tratamentul tinitusului idiopatic acut unilateral.....	83
5.1	Introducere.....	83
5.2	Obiective.....	84
5.3	Material și metodă.....	84
5.4	Rezultate.....	86
5.5	Discuții.....	89
5.6	Concluzii.....	93
6.	Studiul 5. Dexametazona intratimpanică versus betahistina în terapia bolii Meniere unilaterală rezistentă la tratament.....	95
6.1	Introducere.....	95
6.2	Obiective.....	95
6.3	Material și Metodă.....	95
6.4	Rezultate.....	97
6.5	Discuții.....	100
6.6	Concluzii.....	102
7.	Concluzii generale.....	103
8.	Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei.....	105
	REFERINȚE.....	107
	ANEXE.....	123

Cuvinte cheie: tratament intratimpanic, barieră labirintică, farmacocinetică intralabirintică, corticosteroizi , gentamicină , ototoxicitate indusă de cisplatin, crioterapie, tinitus idiopatic acut, boală Meniere.

INTRODUCERE

Tratamentul intratimpanic constând în administrarea medicamentelor direct în urechea medie la nivelul nișei ferestrei rotunde este o alternativă la tratamentul afecțiunilor urechii interne prin administrare sistemică. Avantajul este difuziunea directă a substanțelor terapeutice în urechea internă prin membrana ferestrei rotunde și realizarea unor concentrații mari intralabirintice cu efecte secundare sistemice minime.

Stadiul actual al cunoașterii

Descrie sistemele de barieră labirintice, constituite din fereastra rotundă, bariera hemato-labirintică și bariera LCR-labirintică, prezintă mecanismele formării lichidelor labirintice și menținerea homeostaziei lor, sintetizează procesele farmacocinetice la care sunt supuse substanțele exogene în interiorul labirintului și descrie metodele de administrare a medicamentelor în urechea internă.

Contribuția personală

1. Obiective generale

- Identificarea soluțiilor de optimizare a căii de administrare intratimpanică a medicamentelor și sistematizarea indicațiilor actuale ale tratamentului intratimpanic cu corticosteroizi și gentamicină
- Identificarea principalelor strategii de combatere a ototoxicității induse de cisplatin în cursul tratamentului oncologic al tumorilor maligne

-
- Evaluarea experimentală a eficienței crioterapiei în întârzierea închiderii orificiului de miringotomie
 - Stabilirea eficienței terapeutice a unei asocieri medicamentoase (dexametazonă și melatonină), utilizând calea de administrare intratimpanică, în tratamentul tinitusului idiopatic acut unilateral
 - Compararea eficienței tratamentului intratimpanic cu dexametazonă cu tratamentul oral cu doze mari de betahistină la pacienții cu boală Meniere refractară

2. Studiul 1. Aspecte clinice și farmacologice ale terapiei sindroamelor cohleo-vestibulare prin administrarea intratimpanică a medicației

Obiectivele studiului

1. Recenzarea substanțelor medicamentoase cele mai frecvent administrate intratimpanic în terapia sindroamelor cohleo-vestibulare
2. Precizarea particularităților anatomo-fiziologice și farmacologice care caracterizează tratamentele intratimpanice
3. Sistematizarea indicațiilor actuale ale tratamentului intratimpanic cu corticosteroizi și gentamicină

Material și metodă

Pentru atingerea obiectivelor studiului am trecut în revistă literatura de specialitate prin accesarea resurselor bibliografice PubMed și Cochrane, utilizând cuvintele cheie în limba engleză: *inratympanic drug delivery, hemato-labirinthine barrier, intralabirinthine pharmacology, inratympanic corticosteroids, inratympanic gentamicine*

Rezultate

Metodele de tratament intratimpanic în managementul afecțiunilor urechii interne sunt fundamentate pe experiența izolată a unor autori, neexistând standarde consacrate.

În practica clinică, medicamentele cele mai frecvent administrate intratimpanic pentru perfuzarea cohleei în cadrul terapiei diverselor sindroame cohleo-vestibulare, sunt: corticosteroizii și antibioticele aminoglicozidice.

Sistemele de barieră labirintice sunt multiple. O primă componentă este endoteliul capilar continuu. Medicamentele pătrund în perilimfă din circulația sistemică fie prin mecanisme de transport sau prin dizolvare în endoteliul capilar.

Traversarea barierei hematomlabirintice de către medicamente depinde de caracteristicile chimice ale acestora. Medicamentele cu greutate moleculară sau încărcătura electrică mari traversează cu dificultate în mod pasiv. Liposolubilitatea mare facilitează trecerea. Medicamentele care se leagă de proteine traversează mai greu. Potențialul pozitiv neobișnuit din scala media îngreunează suplimentar trecerea, medicamentele încărcate pozitiv având de înfruntat un gradient electric potrivnic.

Distribuția medicamentelor în urechea internă după administrarea intratimpanică depinde de locul de pătrundere: prin sau în vecinătatea membranei ferestrei rotunde, prin sau în vecinătatea ferestrei ovale sau prin capsula otică. Concentrația medicamentelor în lichidele cohleare depinde atât de rata absorbției în cohlee cât și de eliminarea acestora în circulația sistemică precum și în urechea medie prin membrana ferestrei rotunde.

Corticosteroizii au fost utilizați în terapia sindroamelor cohleovestibulare datorită efectelor lor antiinflamatorii și imunosupresoare. Efectele adverse după administrarea sistemică favorizează administrarea intratimpanică a corticosteroizilor. Dozele, schemele de tratament și volumul de medicament injectat recomandate de studii sunt deduse empiric și sunt foarte variabile, injecțiile intratimpanice fiind administrate uneori zilnic timp de cinci zile sau săptămânal până la patru săptămâni consecutive. **Antibioticele aminoglicozidice** s-au remarcat prin efectul ototoxic cu aplicabilitate în tratamentul vertijului din cadrul bolii Meniere. Gentamicina este agentul terapeutic preferat datorită preponderenței efectului vestibulotoxic față de proprietățile sale cohleotoxice.

Majoritatea studiilor recomandă protocoale de administrare prin *titrare* pentru controlul vertijului din boala Meniere. Astfel, se injectează gentamicină intratimpanic o dată pe săptămână până apar primele semne de hipofuncție vestibulară și controlul vertijului sau până la agravarea audiției. În cadrul acestor protocoale, controlul pe termen lung al vertijului nu prezintă diferențe semnificative față de controlul realizat prin tratamente cu doze zilnice unice sau multiple.

Concluzii

Medicamentele cele mai frecvent utilizate prin administrare intratimpanică sunt corticosteroizii și gentamicina.

Corticosteroizii administrați intratimpanic sunt indicați în surditatea brusc instalată, boala Meniere, boala autoimună primitivă a urechii și tinitus. Indicație absolută prezintă doar hipocuzia brusc instalată cu eșec la corticoterapia sistemică.

Gentamicina intratimpanică își găsește utilitatea în tratamentul vertijului din cadrul bolii Meniere.

3. Studiul 2. Prevenția și tratamentul hipoacuziei asociate chimioterapiei cu cisplatin

Obiectivele studiului

1. Identificarea moleculelor otoprotectoare cunoscute și a unor strategii eficiente împotriva hipoacuziei induse de cisplatin
2. Precizarea mecanismelor celulare și moleculare ale ototoxicității cisplatinului
3. Stabilirea căii optime de administrare a tratamentelor preventive sau curative adresate hipoacuziei induse de cisplatin în cursul tratamentului oncologic al tumorilor maligne
4. Precizarea investigațiilor paraclinice cele mai utile pentru diagnosticul precoce și monitorizarea ototoxicității induse de tratamentul cu cisplatin al tumorilor maligne
5. Stabilirea perspectivelor de cercetare pentru combaterea ototoxicității induse de cisplatin

Material și metodă

În vederea realizării obiectivelor propuse am selectat studii clinice, experimentale și review-uri referitoare la ototoxicitate din literatura de limbă engleză, jurnale medicale sau PubMed. Cuvintele cheie utilizate au fost *hipoacuzie indusă de cisplatin, otoprotecție, terapia intratimpanică, terapia sistemică*.

Rezultate

Cisplatinul produce leziuni în principal celulelor ciliate externe și, într-o oarecare măsură, celulelor ciliate interne din organul Corti, inițial în tura bazală a cohleei urmate de modificări ale celulelor senzoriale din zona apicală. Cisplatinul afectează, de asemenea, celulele de suport, celulele marginale ale striei vasculare și ale ligamentului spiral. Structurile labirintului posterior sunt afectate, alături de celulele ganglionului spiral.

Mecanismele moleculare ale hipoacuziei induse de cisplatin includ producerea de specii reactive de oxigen și depleția de molecule antioxidative ca glutatoniul și enzimele sale regeneratoare, precum și accelerarea peroxidării lipidelor, modificările

oxidative ale proteinelor, afectarea structurii acizilor nucleici prin activarea sistemului caspazelor și S-nitrozilarea proteinelor cohleare urmată de apoptoza celulelor din urechea internă.

Amplizarea ototoxicității datorate administrării cisplatinului poate fi evaluată clinic prin aprecierea hipoacuziei cu ajutorul explorărilor funcționale efectuate înaintea tratamentului și la controalele ulterioare, iar experimental prin examinări histopatologice. Primele includ audiometria tonală liminară (gama de frecvențe normale sau extinsă la frecvențele înalte), audiometria vocală, impedancemetrica, potențialele evocate auditive de trunchi cerebral și testarea produșilor de distorsiune a otoemisiunilor acustice (PDOA). La animalele de experiență, hipoacuzia după tratamentul cu cisplatin poate fi evaluată cu ajutorul studiilor audiometrice ale răspunsurilor auditive din trunchiul cerebral. Examinările histopatologice ale urechii interne după administrarea experimentală de cisplatin pun în evidență în principal distrugerea celulelor ciliate externe și în oarecare măsură a celulelor ciliate interne și a terminațiilor nervoase asociate, degenerescența organelor vestibulare, edemul striei vasculare și decolarea tecii de mielină a celulelor ganglionului spiral.

S-au recenzat 43 de publicații referitoare la prevenția sau tratamentul ototoxicității induse de cisplatin. Publicațiile au fost catalogate în două categorii de studii, experimentale sau clinice. Hipoacuzia secundară tratamentului cu cisplatin afectează inițial frecvențele înalte extinzându-se în urma dozelor multiple și la frecvențele conversaționale.

Studiile experimentale au susținut eficiența oxigenoterapiei hiperbare, terapiei cu epigallocatechină și a lactatului intratimpanic. Sertralina administrată oral, pe lângă efectul otoprotector împotriva ototoxicității induse de cisplatin, mai prezintă valoare terapeutică pentru combaterea depresiei care apare frecvent la bolnavii oncologici. Butiratul sodic și-a dovedit eficiența împotriva hipoacuziei induse de cisplatin în cadrul unui model cu monodoză de cisplatin. Administrarea intratimpanică de ARN scurt de interferență are ca rezultat reducerea producției de specii reactive de oxigen endogene. Minocyclina părea să fie eficientă doar pentru doze mici de cisplatin în timp ce erdoestina sistemică prezintă rezultate promițătoare. Dexametazona în studiile experimentale combină eficiența împotriva ototoxicității induse de cisplatin cu conservarea activității tumoricide a cisplatinului. De asemenea, acidul Rosmarinic s-a dovedit otoprotector în timp ce extractul apos de *Maytenus ilicifolia*, nu. Resveratrolul prezintă efecte contradictorii.

Există și studii experimentale care demonstrează ineficiența N-acetilcisteinei intratimpanice și a dexametazonei sistemice și intratimpanice. N-acetilcisteina a prezentat și un efect distructiv asupra structurilor din urechea medie și internă.

Studiile clinice au evidențiat un efect otoprotectiv minor al dexametazonei intratimpanice și nici un efect în cazul amifostinei sistemice și al L-N-acetilcisteinei intratimpanice.

Perspectivile noi sunt date de terapia neurotrofică, de terapia genică utilizând vectori virali și genotipare, interferența ARN și de terapiile celulare.

3.1 Concluzii

Studiile experimentale pun în evidență moleculele otoprotectoare și strategii eficiente împotriva hipoacuziei induse de cisplatin în timp ce doar dexametazona s-a dovedit a avea un ușor efect otoprotector într-un studiu clinic.

Ototoxicitatea cisplatinului are ca mecanisme celulare lezarea structurilor senzoriale și de suport labirintice iar ca mecanisme moleculare producerea de specii reactive de oxigen și epuizarea sistemelor moleculare antioxidative.

Calea de administrare intratimpanică are cea mai mare eficiență terapeutică și evită efectele secundare sistemice.

Înregistrarea produșilor de distorsiune a otoemisiunilor acustice (PDOA) prezintă o sensibilitate crescută în depistarea afectării funcționale a structurilor neurosenzoriale auditive în cursul tratamentului cu cisplatin.

Terapiile genice și celulare, ARN-ul de transfer sunt perspective promițătoare în prevenția și tratarea ototoxicității induse de cisplatin.

4. Studiul 3. Eficiența și siguranța crioterapiei în menținerea patenței orificiului de miringotomie la șobolan

Obiective

Scopul studiului nostru a fost evaluarea eficienței administrării crioterapiei cu spray de joasă presiune în scopul prelungirii perioadei de închidere spontană a orificiului de miringotomie la șobolan.

Material și metodă

Am utilizat 40 de șobolani adulți distribuiți în două loturi egale, primul pentru studiu observațional iar al doilea pentru studiu anatomopatologic. Toate procedurile s-au efectuat cu animalele sub anestezie generală. Inițial am examinat otomicroscopic bilateral fiecare animal din ambele loturi pentru a exclude afecțiuni ale urechii externe și medii. În continuare s-a practicat fiecărui animal miringotomia bilaterală sub control otomicroscopic. Apoi, câte o ureche a fiecărui șobolan a fost selecționată aleatoriu în vederea tratării cu azot lichid a orificiului de miringotomie. Urmărirea animalelor a

presupus otomicroscopia bilaterală zilnică și înregistrarea video a orificiului de miringotomie pe o perioadă de patru săptămâni. Patența miringotomiei a fost verificată zilnic la fiecare animal din studiu.

Analiza statistică s-a realizat cu ajutorul programului SPSS 20.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL).

La sfârșitul săptămânii unu, doi, trei și patru de la procedura chirurgicală au fost sacrificați șobolani aparținând lotului de studiu histologic. Specimenele histologice din craniu, incluzând timpanul, au fost recoltate și fixate, realizându-se secțiuni care au fost examinate la microscopul optic.

Rezultate

În loturile studiate au fost 20 de membrane timpanice la care s-au practicat miringotomii simple (Lotul A) și 20 de timpane cu crioterapie asociată miringotomiei (Lotul B).

În lotul A durata medie de menținere a miringotomiei a fost de $4,75 \pm 2,93$ zile, în timp ce la lotul B aceasta a fost de $11,01 \pm 4,87$ zile. Diferența este semnificativă statistic: testul t Student, $p < 0,00001$, 95% CI (-8,82; -3,67). Metoda curbelor de supraviețuire Kaplan-Meier arată că supraviețuirea miringotomiei este semnificativ mai lungă la lotul B.

Analiza histologică a ambelor loturi demonstrează la o săptămână o proliferare a celulelor epiteliale, după două săptămâni, se poate remarca proliferarea focală a țesutului conjunctiv fibros și aplatizarea celulelor epiteliale. În cadrul lotului supus crioterapiei se observă mai puține celule inflamatorii și regenerarea incompletă a țesutului conjunctiv fibros din lamina membranei timpanice.

După trei sau patru săptămâni de la practicarea miringotomiei, se remarcă închiderea completă a orificiului timpanic bilateral.

Procesul de cicatrizare a membranei timpanice după perforație completă este intricat, se desfășoară în etape, incluzând o fază inflamatorie, migrație epitelială și o perioadă de proliferare a țesutului conjunctiv. Proliferarea celulară începe în centrul membranei timpanice și se deplasează spre defect. Crioterapia afectează epiteliul și structurile subepiteliale cum este țesutul conjunctiv și rețeaua vasculară din lamina propria. Principalele mecanisme de leziune tisulară după crioterapie par a fi tromboza și leziunea vasculară din capilare, arteriole și vene.

Concluzii

Crioterapia s-a dovedit o metodă sigură și eficientă de întârziere a închiderii spontane a miringotomiei la șobolan.

5. Studiul 4. Dexametazona intratimpanică plus melatonină versus melatonină în tratamentul tinitusului idiopatic acut unilateral

Obiective

Obiectivul studiului de față a fost să determine dacă asocierea de corticosteroid intratimpanic cu melatonină ar putea diminua tinitusul la pacienții cu tinitus idiopatic acut unilateral.

Material și metodă

Ipoteză a fost evaluată printr-un trial prospectiv, randomizat, controlat, dublu-orb. Am evaluat 60 de pacienți adulți prezentând tinitus unilateral idiopatic la maximum trei luni de la debut. Evaluarea pacienților a inclus anamneza detaliată, examenul clinic al extremității cefalice și examenul otomicroscopic. Au urmat audiograma tonală liminară, audiograma vocală, impedancemetria și potențialele evocate auditive de trunchi cerebral. Leziunilor retrocochleare s-au exclus prin examinare imagistică cu rezonanță magnetică. Analizele de laborator au inclus hemoleucograma, analizele biochimice sangvine, profilul lipidic seric și probele funcționale tiroidiene. Pacienții incluși în studiu au fost împărțiți aleatoriu în două loturi: Lotul A – brațul cu tratament și Lotul B- brațul de control. Cei 30 de pacienți ai Lotului A au primit melatonină și patru injecții intratimpanice de dexametazonă, câte una la fiecare a șaptea zi consecutivă. Pacienții au primit câte 3 mg de melatonină, câte un comprimat în fiecare seară, cu două ore înainte de culcare timp de opt săptămâni. Pacienții Lotului B (30 de cazuri) au primit melatonină și soluție izotonă de ser fiziologic conform schemei menționate mai sus.

Evaluarea rezultatelor

S-a efectuat audiograma tonală, audiograma vocală și s-a evaluat înălțimea și intensitatea tinitusului la fiecare pacient. Pacienții selectați ca eligibili au completat chestionare specifice la începutul studiului și la trei luni după începerea tratamentului. Aprecierea ameliorării tinitusului s-a făcut cu ajutorul a trei mijloace de evaluare a rezultatelor : 1) scorul de intensitate a tinitusului 2) scorul de conștientizare a tinitusului; 3) indicele de handicap al tinitusului (IHT). Calitatea somnului și depresia au fost evaluate cu ajutorul unor chestionare specifice: Indicele de Calitate a Somnului Pittsburgh (ICSP) și Criteriile de Depresie Beck (CDB).

În conformitate cu aceste criterii, am definit ameliorarea ca o reducere cu 10% a scorului de conștientizare a tinitusului, o scădere cu mai mult de două puncte a scorului de intensitate a tinitusului și scăderea IHT cu peste 20 de puncte. Vindecarea a

fost definită ca reducerea scorului de conștientizare a tinitusului la 0%. S-au comparat ratele de ameliorare și de vindecare între cele două loturi. La toți pacienții s-a evaluat asocierea între fiecare rată de ameliorare și vârsta, durata tinitusului, pragurile auditive pe partea cu tinitus, scorurile inițiale de intensitate și de conștientizare a tinitusului, IHT, ICSP și CBD inițiale.

Prelucrarea statistică s-a făcut cu ajutorul programului statistic SPSS (SPSS Inc, Chicago, IL) și s-a considerat $p < 0,05$ statistic semnificativ.

Rezultate

Nu au existat diferențe semnificative între loturile tratate în ce privește vârsta, sexul, durata medie și localizarea tinitusului, scorurile de conștientizare și intensitate a tinitusului, scorurile ICSP și CDB. Scorul de intensitate a tinitusului a fost statistic semnificativ mai mic după tratament în ambele loturi. Pacienții din Lotul A au obținut o ameliorare mai bună a intensității, în mod semnificativ statistic. Scorul de conștientizare a tinitusului după tratament a fost semnificativ mai mic decât înainte de tratament în ambele loturi. În cursul evaluării ameliorării post tratament a scorului individual de conștientizare a tinitusului, comparând între ele lotul A cu lotul B, s-a găsit o diferență statistic semnificativă. Scorul mediu IHT după tratament a fost semnificativ mai mic decât cel dinaintea tratamentului în ambele loturi, existând totuși o diferență semnificativă statistic între cele două loturi, în favoarea lotului A. Scorurile ICSP și CDB s-au ameliorat după tratament în ambele loturi, fără diferențe semnificative între loturi. Ratele vindecărilor și ameliorărilor sunt semnificativ mai bune în lotul de tratament față de lotul cu pacienți care au primit doar melatonină. În cadrul aceluiași lot, numărul pacienților ameliorați este mai mare decât al celor vindecați. Analizarea regresiei multiple nu a demonstrat nici o corelație între ratele ameliorărilor și vârstă, durata tinitusului, pragul auditiv pe partea cu tinitus, scorurile inițiale de conștientizare și intensitate a tinitusului, scorurile inițiale IHT, ICSP, CDB.

Concluzii

Cercetarea prezentă a arătat o ameliorare semnificativă a fiecărui rezultat al tratamentului în ambele loturi. Pacienții din lotul tratat cu dexametazonă intratimpanic și melatonină au avut statistic rezultate semnificativ mai bune. În plus, diferențele dintre ratele ameliorării și vindecării au fost foarte semnificative între cele două loturi.

Studiul prezintă și câteva limitări iar rezultatele sunt preliminare și sunt necesare studii ulterioare pentru consolidarea lor înainte de a formula orice recomandare definitivă în favoarea acestei strategii de gestionare a tinitusului.

6. Studiul 5. Dexametazona intratimpanică versus Betahistina în terapia bolii Meniere unilaterală rezistentă la tratament

Obiective

Obiectivul studiului a fost evaluarea eficienței tratamentului IT cu dexametazonă comparativ cu administrarea de doze mari de betahistină în tratamentul pacienților cu boală Meniere.

Material și Metodă

Au fost incluși în studiu pacienți adulți care au îndeplinit criteriile de diagnostic pentru boala Meniere unilaterală elaborate de Academia Americana de Otorinolaringologie și Chirurgie a Capului și Gâtului (AAO-HNS). Toți subiecții au urmat anterior fără succes o cură de șase luni cu diuretice și dietă hiposodată.

Tuturor pacienților li s-a aplicat un examen otoneurologic complet, li s-a efectuat audiograma tonală liminară (ATL) și media pragurilor pe patru frecvențe (0,5, 1, 2, și 3 kHz) și scorul de discriminare vocală (SDV). Scorul Nivelului Funcțional, Clasa și controlul vertijului au fost calculate după recomandările AAO-HNS din 1995. Indexul de handicap al vertijului (IHV) a fost evaluat în cazul fiecărui pacient. Pentru tinitus a fost completat de către fiecare pacient Indexul de Handicap al Tinitusului (IHT).

Pacienții au fost împărțiți aleatoriu în două loturi, a câte 33 de pacienți fiecare, lotul A și lotul B. Lotul A a primit o asociere de dexametazonă intratimpanic (DX) și comprimate placebo identice în timp ce lotul B a primit o doză mare de betahistină și ser fiziologic intratimpanic. Toți pacienții au fost monitorizați clinic în timpul perioadei de studiu la interval de două luni.

Analiza statistică a fost efectuată cu ajutorul pachetului SPSS ver.20.0 (SPSS Inc, Chicago,IL).

La 1 an după tratament, controlul complet al vertijului (clasa A) s-a obținut la 14 pacienți (47%) din lotul A și s-a ameliorat substanțial (clasa B) la 7 pacienți (20%). În ciuda reintervenției terapeutice în 2 cazuri, 8 pacienți au raportat controlul limitat al vertijului (clasa C și D) și unul din clasa E nu a avut nici-un control asupra vertijului. În lotul B, 12 pacienți (clasa A) au prezentat control complet asupra vertijului, 5 pacienți control substanțial. Zece pacienți (clasa C și D) au prezentat control limitat în timp ce eșecul a fost raportat în 2 cazuri. Aceste 2 cazuri au fost programate pentru tratament IT cu gentamicină.

Postterapeutic nu au existat diferențe semnificative statistic intra și interloturi. În conformitate cu criteriile din 1995 ale AAO – HNS în lotul A funcția auditivă a rămas neschimbată la 14 pacienți, s-a îmbunătățit la 4 și s-a agravat la 12. Tot pe baza acestor criterii, în lotul B auzul a rămas neschimbat la 16 pacienți, s-a îmbunătățit la 2 și a intrat în declin la 11. După terapie gradul de amețeală evaluat cu IHV a arătat o

reducere semnificativă în ambele loturi, dar diferențe semnificative interloturi nu au existat. S-a înregistrat o semnificativă reducere a indicelui de handicap al tinitusului fără să existe, din nou, diferențe semnificative statistic între cele două metode terapeutice.

6.1 Concluzii

Nu a fost nici o diferență semnificativă între loturi în ce privește controlul vertijului între cele două brațe terapeutice.

Tratamentul oral are aceeași rată de succes ca și tratamentul cu corticosteroid IT.

Auzului a fost conservat în ambele loturi doar la pacienții cu un bun control al vertijului, fapt remarcat și de studii anterioare.

7. Concluzii generale

1. Calea de administrare intratimpanică permite realizarea unor concentrații terapeutice superioare în urechea internă și evitarea efectelor secundare sistemice.
2. Eficiența tratamentului intratimpanic este influențată de o gamă largă de factori dintre care cei mai importanți sunt anatomici, farmacologici și ce țin de procedura chirurgicală.
3. Corticosteroizii și gentamicina sunt cei mai populari agenți terapeutici administrați pe cale transtimpanică.
4. Hipoacuzia secundară tratamentului cu cisplatin afectează în principal frecvențele înalte, extinzându-se la frecvențele conversaționale deoarece dozele multiple de cisplatin agravează tulburările de auz.
5. Ototoxicitatea indusă de cisplatin se datorează producerii radicalilor liberi de oxigen și epuizării sistemelor moleculare antioxidative.
6. Producții de distorsiune a otoemisiunilor acustice au sensibilitate superioară în monitorizarea postterapeutică a auzului în cursul tratamentului oncologic cu cisplatin.
7. Terapia preventivă sau curativă a sindroamelor cohleo-vestibulare cauzate de cisplatin beneficiază de calea de administrare intratimpanică a diverselor substanțe otoneuroprotectoare, a terapiilor genice sau celulare.

-
8. Crioterapia întârzie procesul histologic de închidere spontană a perforațiilor create în scop terapeutic în membrana timpanică.
 9. Asocierea dexametazonă intratimpanic cu melatonină oral este mai eficientă decât melatonina simplă în ameliorarea tinitusului idiopatic cu debut în ultimele trei luni.
 10. Melatonina administrată pe cale orală constituie o opțiune terapeutică pentru tinitusul idiopatic acut.
 11. Tratamentul intratimpanic cu dexametazonă și administrarea orală de betahistina au eficiențe comparabile în terapia bolii Meniere unilaterale refractare.
 12. Conservarea auzului însoțește un bun control terapeutic al vertijului în cursul terapiei bolii Meniere.

1. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei

Studiile din secțiunea *Contribuția personală* identifică soluțiile actuale de eficientizare a tratamentului intratimpanic în cadrul terapiei sindroamelor cohleo-vestibulare, stabilesc modalitățile concrete și de perspectivă pentru combaterea ototoxicității induse de cisplatin, verifică experimental crioterapia ca modalitate de optimizare a căii intratimpanice de administrare a medicației și evaluează clinic două abordări terapeutice, demonstrând eficiența tratamentului sindroamelor cohleo-vestibulare prin administrare intratimpanică a unor medicamente versus tratament oral.

Studiul 5 este primul studiu cu asemenea obiectiv.

PhD THESIS SUMMARY

Intratympanic drug delivery for cochleo-vestibular syndromes therapy

PhD Candidate **Felician Dorin Chirteş**

Scientific coordinator Prof.dr. **Silviu Albu**

TABLE OF CONTENTS

INTRODUCTION13

THE CURRENT STATE OF KNOWLEDGE

1. The labirinthine barrier systems.....17

- 1.1 The round window..... 17
- 1.2 The blood-labirinthine barrier and microvascularisation of the inner ear 17
- 1.3 The CSF-labirinthine barrier 19

2. The mechanisms of homeostasis of labirinthine fluids21

3. The intralabirinthine pharmacokinetics.....25

4. Inner ear drug delivery methods33

- 4.1 Pasive intratympanic delivery**..... 34
 - 4.1.1 Biodegradable polymer intratympanic delivery 34
 - 4.1.2 Hidrogel-based intratympanic delivery 35
 - 4.1.3 Nanoparticle intratympanic delivery..... 35
- 4.2 Active intratympanic drug delivery**..... 37
 - 4.2.1 Round window microcatheter 38
 - 4.2.2 Silverstein microwick..... 39
 - 4.2.3 Osmotic pump 39
 - 4.2.4 Totally implantable drug delivery systems 39
- 4.3 Intracochlear drug delivery**..... 40

PERSONAL CONTRIBUTIONS

1. General objectives45

2. Study 1. An overview of pharmacology and clinical aspects concerning the therapy of cochleo-vestibular syndromes with IT drug delivery47

- 2.1 Introduction 47
- 2.2 Objectives..... 48
- 2.3 Material and method 48
- 2.4 Results..... 48
- 2.5 Discussions..... 53
- 2.6 Conclusions 55

3. Study 2. Prevention and restauration of hearing loss associated with the use of cisplatin.....57

- 3.1 Introduction 57
- 3.2 Objectives 57

3.3	Material and method	58
3.4	Results	58
3.5	Discussions	69
3.6	Conclusions.....	76
4.	Study 3. Efficiency and safety of cryotherapy in avoiding miringotomy closure in rats	77
4.1	Introduction	77
4.2	Objectives	77
4.3	Material and method.....	77
4.4	Results	79
4.5	Discussions	81
4.6	Conclusions.....	82
5.	Study 4. Intratympanic dexamethasone plus melatonin versus melatonin only in the treatment of unilateral acute idiopathic tinnitus..	83
5.1	Introduction	83
5.2	Objectives	84
5.3	Material and method.....	84
5.4	Results	86
5.5	Discussions	89
5.6	Conclusions.....	93
6.	Study 5. Intratympanic dexamethasone versus high dosage of betahisthine in the treatment of intractable unilateral Meniere disease	95
6.1	Introduction	95
6.2	Objectives	95
6.3	Material and Method	95
6.4	Results	97
6.5	Discussions	100
6.6	Conclusions.....	102
7.	General conclusions.....	103
8.	Originality and innovative contributions of the thesis.....	105
	REFERENCES.....	107
	ADENDA	123

Key words: intratympanic delivery, labirinthine barrier, intralabyrinthine pharmacokinetics, corticosteroids, gentamicine, cisplatin induced ototoxicity, cryotherapy, acute idiopathic tinnitus, Meniere disease.

INTRODUCTION

The intratympanic drug delivery is an alternative to the systemic administration of drugs for the treatment of inner ear diseases. Drugs are being administered into the middle ear near the round window niche. The method has the advantage of direct diffusion of drugs into the inner ear through the round window membrane leading to higher intralabyrinthine drug concentrations and lower systemic side effects.

The current state of knowledge

It is a review of the labyrinthine barrier systems, made up of the round window, the blood-labyrinthine barrier and the CSF-labyrinthine barrier, the formation of the labyrinthine fluids, their physiology and pharmacokinetics. Drug delivery methods to the inner ear are also described.

Personal contributions

1. General objectives

- To figure out solutions for improving the intratympanic drug delivery and to clarify the present indications for corticosteroids and gentamicine intratympanic delivery
- To figure out the main preventing and restorative strategies against cisplatin induced ototoxicity during oncologic cancer treatment
- Experimental assessment of the efficiency of cryotherapy in avoiding the closure of miringotomy in rats

-
- Assessment of the therapeutic efficiency of a drug association (dexamethasone and melatonin), using combined intratympanic and oral drug delivery, in treating unilateral idiopathic tinnitus
 - To compare efficiency between intratympanic dexamethasone and high dosage of oral betahistine in patients with intractable Meniere disease

2. Study 1. An overview of pharmacology and clinical aspects concerning the therapy of cochleo-vestibular syndromes with IT drug delivery

Objectives

1. Presentation of the drugs most frequently delivered by intratympanic route during the therapy for cochleo-vestibular syndromes
2. Identification of anatomic-physiologic and pharmacologic characteristics of intratympanic drug delivery
3. Synthesis of the present indications for corticosteroids and gentamicine intratympanic delivery

Material and method

We searched PubMed and Cochrane for articles featuring key words like: *intratympanic drug delivery, hemato-labyrinthine barrier, intralabyrinthine pharmacology, intratympanic corticosteroids, intratympanic gentamicine*

Results

The intratympanic drug delivery methods for inner ear diseases are based on empirical expertise of different authors, without state of the art standards.

The most frequent drugs delivered intratympanically during the treatment of cochleo-vestibular syndromes are corticosteroids and gentamicine.

There are multiple labyrinthine barrier systems. Among them, the capillary endothelium is regulating drug penetration into the perilymph from the systemic vascular system, by means of active transport or diffusion.

Drugs' chemical characteristics influence their crossing the blood-labyrinthine barrier. Large molecular weight or large electric charge therapeutic molecules are hindered to cross the barrier passively. High liposolubility facilitates the crossing. Protein binding drugs are also hindered from crossing the barrier easily. The positive

endocochlear potential also prevents positively charged molecules from crossing the barrier against an opposing electric gradient.

Drug distribution into the inner ear after intratympanic delivery depends on the site of entrance: through or near the round window membrane, through or near the oval window or through the otic capsule. Drug concentration in the cochlear fluids depends both on the absorption rate into the cochlea and on their elimination in the systemic circulation or into the middle ear through the round window membrane.

Corticosteroids were used for the treatment of cochleo-vestibular syndromes based on their anti-inflammatory and immunosuppressive effects. The side effects after systemic administration favor their intratympanic delivery. Dosage, frequency of administration and the volume of drug injected into the middle ear vary among studies, from daily to weekly intratympanic shots. Aminoglycosides were used for treating vertigo in Meniere disease, based on their ototoxic effect. Gentamicine is preferred due to its stronger vestibulotoxic effect compared to its cochleotoxic effect.

Most of the studies recommend *titration* protocols to control vertigo in Meniere disease. Gentamicine is injected intratympanically once a week until the first signs of vestibular hypofunction and control of vertigo or until hearing loss is experienced by the patient. Among these protocols, long term control of vertigo does not differ from the control achieved by daily unique or multiple doses.

Conclusions

The corticosteroids and gentamicine are the drugs most frequently delivered by the intratympanic route during the therapy for cochleo-vestibular.

Intratympanic corticosteroids are indicated for sudden idiopathic hearing loss, Meniere disease, autoimmune inner ear disease and tinnitus. The only strong indication is for sudden idiopathic hearing loss with no response to systemic corticotherapy.

Intratympanic gentamicine is used for the treatment of vertigo in Meniere disease.

3. Study 2. Prevention and restoration of hearing loss associated with the use of cisplatin

Objectives

1. To point out otoprotective molecules and efficient strategies against cisplatin induced hearing loss
2. To point out cellular and molecular mechanisms of cisplatin ototoxicity

-
3. To settle the optimal route for drug delivery associated with the treatment and prevention of cisplatin induced hearing loss
 4. To point out the most precise investigations used for the early diagnosis and follow-up of cisplatin induced ototoxicity
 5. To set new research goals for cisplatin induced ototoxicity

Material and method

We searched PubMed and medical journals for experimental and clinical studies and reviews featuring key words like: cisplatin induced hearing loss, otoprotection, intratympanic therapy, systemic therapy.

Results

Cisplatin inflicts injuries mainly to outer hair cells and to some extent to inner hair cells of the organ of Corti in the basal turn of the cochlea followed by alterations in sensorial cells situated in the apex. Cisplatin also targets supporting cells, marginal cells of the stria vascularis and the spiral ligament. Both the vestibular structures and the spiral ganglion cells are affected. Molecular mechanisms of cisplatin-induced hearing loss involve the creation of reactive oxygen species and depletion of antioxidant glutathione and its regenerating enzymes as well as increased rate of lipid peroxidation, oxidative modifications of proteins, nucleic acids damage by Caspase system activation and S-nitrosylation of cochlear proteins and resulting apoptosis of inner ear cells. The extent of ototoxicity due to cisplatin administration can be assessed clinically through measurements of hearing loss by means of pretreatment and follow-up serial audiologic tests, and experimentally through histological examinations. The former include pure tone (normal frequency and extended high-frequency range), speech and impedance audiometry, auditory brainstem responses and Distortion Product Otoacoustic Emissions (DPOAEs) testing. In experimental animals, hearing loss after cisplatin treatment can be assessed by audiological study of the auditory brainstem responses. Histologic examinations of inner ear after cisplatin administration reveals destruction primarily of outer hair cells and to some extent inner hair cells and associated nerves, degeneration of the vestibular organs, stria vascularis edema and detachment of the myelin sheath of the spiral ganglion cells.

43 publications were reviewed concerning prevention or treatment of cisplatin induced ototoxicity. Publications were devised in either experimental or clinical studies. The hearing loss following cisplatin treatment affects principally the high frequencies, extending to speech range frequencies as multiple doses of cisplatin worsen hearing.

Experimental studies sustained the efficiency of hyperbaric oxygen therapy, epigallocatechin therapy and intratympanic lactate. Oral sertraline, besides its otoprotective effect against cisplatin induced ototoxicity, also has therapeutic value

concerning the depression occurring frequently in oncologic patients. Sodium butyrate proved its efficiency against cisplatin induced hearing loss in a monodose cisplatin model. The production of endogenous radicals of oxygen species was reduced after intratympanic administration of short interfering RNA. Minocycline appeared to be efficient only at low doses of cisplatin while systemic erdosteine showed promising results. Dexamethasone in experimental studies combined efficiency against cisplatin induced ototoxicity with preservation of the tumoricidal activity of cisplatin. Rosmarinic acid also proved to be otoprotective while the *Maytenus ilicifolia* aqueous extract was not. Resveratrol had contradictory effects.

There also were experimental studies which showed inefficiency of intratympanic N-Acetylcysteine and intratympanic and systemic dexamethasone. N-Acetylcysteine also had a damaging effect on middle and inner ear structures.

Clinical studies proved a minor otoprotective effect of intratympanic dexamethasone and no effect of systemic amifostine and intratympanic L-N-Acetylcysteine.

New perspectives are brought about by the neurotrophins therapy, genetic therapy using viral vectors and genotyping, interference RNA and cellular therapies.

Conclusions

Experimental studies point out otoprotective molecules and efficient therapies against cisplatin induced hearing loss while only dexamethasone showed a slight otoprotective effect in clinical settings.

Cellular mechanisms of cisplatin-induced hearing loss involve injuries of the sensorial and supportive labyrinthine structures while molecular mechanisms involve creation of reactive oxygen species and depletion of antioxidative molecular systems.

The intratympanic route has the best therapeutic efficiency while avoiding systemic side effects.

DPOAE testing is highly sensitive in detecting auditory neurosensorial structures injury during cisplatin therapy for cancer.

Cellular, genetic therapies and transfer RNA are promising fields concerning prevention and restoration cisplatin induced ototoxicity.

4. Study 3. Efficiency and safety of cryotherapy in avoiding mirngotomy closure in rats

Objective

The aim of our study was to study the efficiency of low-pressure spray cryotherapy on protraction of patency time of myringotomies in rats.

Material and method

Forty male Wistar adult male rats were used and dispersed in two equal groups, one for observational study and the second for histological study. All procedures were performed with the animals under general anesthesia. Initially, all animals in the two study groups underwent bilateral microscopic examination to exclude external and middle ear pathology. Subsequently, bilateral myringotomies were performed with cold instruments in each animal under microscopic control. Afterward, one ear in each rat was randomly assigned for liquid nitrogen treatment of the perforated eardrum. Follow-up of the animals included bilateral daily otomicroscopy with video recordings of the myringotomy sites for a period of 4 weeks. Myringotomy patency was recorded daily for each animal within the study. The statistical analysis was performed by means of SPSS 20.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL). Rats from the histological study group were sacrificed one, two, three and four weeks after the surgical procedure. The tissue samples from the skull including the eardrum were harvested and immediately fixed for light microscopy. Tissue sections were cut and examined under an Olympus BX41 microscope.

Results

There were 20 tympanic membranes (Group A) subjected to simple myringotomy and 20 eardrums underwent myringotomy and cryotherapy (Group B). In Group A the mean patency time of the myringotomy was 4.75 ± 2.93 days, while in Group B was 11.01 ± 4.87 days. The difference is statistically significant: Student t test, $p < 0.00001$, 95% CI (-8.82; -3.67). On the other hand, according to the Kaplan-Meier method, myringotomy survival is significantly longer in the cryotherapy group.

Histological analysis of the two groups shows proliferation of epithelial cells after the first week. At 2 weeks the focal proliferation of the fibrous connective tissue and flattening of the epithelial cells can be observed in both groups. In the group undergoing cryotherapy one can see few inflammatory cells and incomplete regeneration of the fibrous connective tissue from the eardrum lamina. At 3 and 4 weeks after myringotomy, one can see that the eardrum defect is completely closed bilaterally.

The healing process of the eardrum following complete perforation is intricate, displays several stages, including an inflammatory phase and epithelial migration and conjunctive tissue proliferation period. Cell proliferation starts at the centre of the tympanic membrane and is moving towards the defect. Cryotherapy involves not only

the epithelium but also the sub epithelial structures like the connective tissue and the vascular network in the lamina propria. . Thrombosis and vascular injury, in capillaries, arterioles and veins seem to be the principal mechanism for tissue injury following cryotherapy.

Conclusions

The cryotherapy is able to significantly increase the patency time of cold instrument myringotomy.

5. Study 4. Intratympanic dexamethasone plus melatonin versus melatonin only in the treatment of acute idiopathic unilateral tinnitus.

Objective

The aim of our study was to determine whether the combination of intratympanic corticosteroid with melatonin could be associated with decreased tinnitus in patients with unilateral acute idiopathic tinnitus.

Material and method

We evaluated this hypothesis through a prospective, randomized, controlled, double-blinded trial. Patients included in the study were randomly allocated into two groups: Group A – comprising 30 patients, received melatonin and IT dexamethazone, 20 and Group B – including 30 patients receiving melatonin alone. After 3 months, improvement in tinnitus was assessed using different outcome measures: tinnitus loudness score, tinnitus awareness score, Tinnitus Handicap Inventory (THI), Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI) and Beck Depression Inventory (BDI).

A total of 60 patients presenting with acute unilateral idiopathic tinnitus within were enrolled in the study. Patient assessment included a detailed history, physical head and neck examination and otomicroscopic examination. The initial examination was followed by pure tone audiometry, speech discrimination, impedance testing and auditory brainstem response. Magnetic resonance imaging scanning was undertaken to rule out retrocochlear lesions. Laboratory tests included complete blood count, blood chemistry, serum lipid profile, and thyroid function tests. Patients included in the study were randomly allocated into two groups according to the treatment employed: Group A – treatment arm and Group B – the control arm. In group A the 30 patients received melatonin plus four IT dexamethasone injections, one on each 7 consecutive initial days. The patients were administered 3 mg of melatonin, 1 pill nightly 1–2 hours before bedtime for 8 weeks. Group B patients (30 cases) were given melatonin pills and IT isotonic sodium chloride solution following the above mentioned schedule.

Outcome measures

In each patient pure-tone thresholds, speech discrimination scores, tinnitus pitch, and tinnitus loudness were measured. Patients selected as eligible completed specific questionnaires at the beginning of the study and 3 months after the beginning of the treatment. Improvement in tinnitus was assessed using three outcome measures: 1) tinnitus loudness score; 2) tinnitus awareness score; 3) Tinnitus Handicap Inventory (THI). Sleep quality and depression were assessed thorough specific questionnaires – Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI) and Beck Depression Inventory (BDI).

According to previous stated criteria , we defined improvement as a >10% reduction of tinnitus awareness score, >2-point reduction of tinnitus loudness score, and >20 point reduction in THI. Cure was defined as a reduction in tinnitus awareness score to 0%. The improvement rates and cure rates were compared among the groups. For all the patients we assessed the relationship between each improvement rate and age, tinnitus duration, pure-tone threshold on tinnitus side, initial tinnitus awareness and loudness scores, initial THI, PSQI and BDI scores.

Records were analyzed using the SPSS statistical software (SPSS Inc., Chicago, IL) and we considered $p < 0.05$ as statistically significant.

Results

There was no significant difference between the treatment groups regarding age, sex, mean duration and side of tinnitus, tinnitus loudness and awareness scores, THI, PSQI and BDI scores. The tinnitus loudness score was statistically significant lower following treatment in both groups. Patients in Group A attained statistically significant better loudness relief. The tinnitus awareness score after treatment was significantly lower than before treatment in both groups. When we assessed post-treatment improvement in individual tinnitus awareness score, comparing Group A versus Group B, there was a statistical significant difference. The mean THI score after treatment was significantly lower than that before treatment in both groups, yet there was statistically significant difference among the two groups, favoring Group A. PSQI and BDI scores were improved following treatment in both groups with no significant differences between groups. Cure rates and improvement rates are significantly better in the treatment group as compared to melatonin only group. In the same group, the number of improved patients exceeds the number of cured patients. Multiple regression analysis demonstrated no correlation between improvement rates and age, tinnitus duration, pure-tone threshold on tinnitus side, initial tinnitus awareness and loudness scores, initial THI, PSQI and BDI scores.

Conclusions

The present investigation demonstrated significant improvements in each of the outcomes subsequent to treatment in both groups. However, patients in the IT

dexamethazone and melatonin group attained statistically significant better results. Besides, the differences in improvement rate and cure rate were highly significant among the two groups. Our study has several limitations. The results are preliminary and further studies are needed to substantiate them prior to making any definite recommendation advocating this modality of tinnitus management.

6. Study 5. Dexametazona intratimpanică versus Betahistina în terapia bolii Meniere unilaterală rezistentă la tratament

Objective

The objective of our randomized, double-blind study was to compare the effectiveness of intratympanic (IT) dexamethasone versus high-dosage of betahistine in the treatment of patients with intractable unilateral Meniere disease (MD).

Material and Method

Included in the study were adult patients with unilateral definite MD fulfilling the criteria of the American Academy of Otolaryngology–Head and Neck Surgery (AAO-HNS). All of these subjects failed a trial of 6 months of low-salt diet and diuretics.

Patients underwent a complete otoneurological examination, and auditory testing consisting in pure tone audiometry (PTA) with 4 frequency average (0.5, 1, 2, and 3 kHz) and speech discrimination score (SDS). Magnetic resonance imaging was obtained in order to rule out a cerebello-pontine pathology. The Functional Level Score (FLS), Class and vertigo control were computed according to the 1995 AAO-HNS guidelines. The Dizziness Handicap Inventory was evaluated for every patient. For tinnitus we used the Tinnitus Handicap Inventory (THI), completed in each patient.

Patients were randomly divided in two groups, group A and group B, each comprising 33 patients. Group A received a combination of IT dexamethasone (DX) and identical-appearing placebo pills while Group B received a combination of high-dosage betahistine and IT saline. During the study period, at two months interval all the patients were surveyed in the clinic.

Statistical analysis was performed using SPSS ver. 20.0 (SPSS Inc, Chicago, IL).

At 1 year follow-up, in Group A complete vertigo control (class A) was attained in 14 patients (46.6%) and substantial control (class B) in 7 patients (20%). In spite of 1 or 2 IT retreatments, eight patients reported limited control (class C and D) and one patient had no control of vertigo (class E). In Group B, 12 patients (41%) achieved complete vertigo control (class A), 5 patients (17%) substantial control (class B) and

10 patients had limited control (class C and D), while failure was reported in 2 cases (class E). Failures in both treatment groups were scheduled for IT gentamicin.

Generally, post-therapy there were no statistically significant variations within and between the two groups. Following therapy, there were also no significant fluctuations in SDS in both groups. According to the 1995 AAO-HNS criteria, in Group A hearing was unchanged in 14 patients, improved in 4 patients and worsened in 12 patients. According to the same criteria, in Group B hearing was unchanged in 16 patients, improved in 2 patients and declined in 11 patients. Following therapy, the perceived dizziness handicap assessed by DHI displayed a significant reduction in both groups. However, the difference between treatment groups was not significant. A significant reduction in tinnitus annoyance assessed by THI at the end of the follow-up was reported in both treatment groups. The difference among the two groups was not significant.

Conclusions

No significant difference was attained in vertigo control between the two treatment arms.

We demonstrated that oral treatment has the same success rate as IT corticoid.

Hearing conservation in both treatment groups was recorded only in patients reporting good vertigo control. This was also reported by previous studies.

7. General conclusions

1. Intratympanic drug delivery achieves higher therapeutic concentrations within the inner ear and avoids systemic side effects.
2. The efficiency of intratympanic drug delivery is influenced by a wide range of factors among which the anatomical, pharmacological and technical factors are the most important.
3. Corticosteroids and gentamicine are the most popular drugs delivered intratympanically.
4. High frequency cisplatin induced hearing loss extends to lower frequencies since multiple doses of cisplatin worsen the hearing loss.
5. Creation of reactive oxygen species and depletion of antioxidative molecular systems are responsible for cisplatin-induced ototoxicity.
6. DPOAE testing is highly sensitive in detecting hearing loss during cisplatin therapy for cancer.
7. Intratympanic delivery of otoprotective drugs, genes and cellular therapies is useful in the preventive and curative therapy of cisplatin induced cochleo/vestibular syndromes

-
8. The cryotherapy delays spontaneous closure of therapeutic miringotomies.
 9. Intratympanic dexamethasone plus oral melatonin is more efficient than oral melatonin only in the treatment of acute unilateral tinnitus.
 10. Oral melatonin is a therapeutic option for acute idiopathic tinnitus.
 11. Oral treatment with high doses of betahistine has the same success rate as IT dexamethasone in the treatment of intractable, unilateral, Meniere disease.
 12. Hearing conservation paralleled good vertigo control in the treatment of Meniere disease.

8. Originality and innovative contributions of the thesis

The studies in the *Personal contribution* section point out modern solutions to efficientise the intratympanic drug delivery for the treatment of cochleo-vestibular syndromes, figer out modalities of therapy aimed against cisplatin ototoxicity, assesses the experimental value of cryotherapy to improve intratympanic drug delivery and measures, clinically, two therapeutic approaches, demonstrating the efficiency of intratympanic drug delivery versus oral delivery in the treatment of cochleo-vestibular syndromes.

The study from chapter 5 is the first study with its stated objective.