



Ospedale dei Bambini V. Buzzi

Ospedale di alta specializzazione materno-infantile convenzionato con l'Università degli Studi di Milano

Clinica Ostetrica e Ginecologica

Direttore prof. Irene Cetin

SERVIZIO DI PATOLOGIA DEL TRATTO GENITALE INFERIORE

Responsabile dr. Filippo Murina

e-mail: filippo.murina@asst-fbf-sacco.it

**STUDIO PILOTA PROSPETTICO DELLE MODIFICAZIONI
ECOGRAFICHE E NEUROSENSORIALI VESTIBOLARI IN PAZIENTI
CON VESTIBOLODINIA DOPO UN CICLO (TRE TRATTAMENTI) DI
APPLICAZIONE DEL LASER FRAZIONATO PIXEL CO₂-ALMA
IN SEDE VESTIBOLARE**

**Sperimentatore principale
Dott. Murina Filippo**

1-INTRODUZIONE

Il vestibolo vulvare, una sottile fascia di tessuto che delimita l'ingresso alla vagina, presenta un'alta concentrazione di terminazioni sensoriali libere con una ramificazione densa e superficiale, rendendo questa mucosa particolarmente sensibile. La vulvodinia è una condizione che comporta dolore vulvare o discomfort della durata di almeno tre mesi, in assenza cause clinicamente identificabili, ma con potenziali fattori associati (ad esempio fattori genetici e/o immunitari, fattori ormonali, infiammazione ed alterazioni neuropatiche). La forma di vulvodinia più frequente è quella localizzata al vestibolo, nota come vestibolodinia (VBD). Sono stati suggeriti numerosi fattori in grado di innescare e/o mantenere la VBD. L'ipersensibilità vestibolare è l'elemento principale della VBD. È ipotizzato che l'iperalgia può essere causata da modificazioni neuroinfiammatorie, che alterando la conduzione delle fibre nervose, abbassano ulteriormente la soglia dei nocicettori vestibolari. Un altro meccanismo suggerito è l'iperinnervazione della mucosa vestibolare. Il laser frazionato CO₂ è stato utilizzato per trattare in modo sicuro ed efficace l'atrofia vaginale postmenopausale. La tecnica, tuttavia, si è dimostrata essere utile anche per il trattamento dei sintomi correlati alla VBD.

Riferimenti bibliografici

-Goldstein AT, Pukall CF, Brown C, Bergeron S, Stein A, Kellogg-Spadt S. Vulvodynia: Assessment and Treatment. J Sex Med. 2016 Apr;13(4):572-90.

- Salvatore S, Athanasiou S, Candiani M. The use of pulsed CO2 lasers for the treatment of vulvovaginal atrophy. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2015;27(6):504–508.
- Murina F, Karram M, Salvatore S, et al. Fractional CO2 laser treatment of the vestibule for patients with vestibulodynia and genitourinary syndrome of menopause: a pilot study. *J Sex Med.* 2016;13(12):1915–1917.

2-OBIETTIVI

Obiettivo primario dello studio è documentare prospettivamente l'efficacia e sicurezza del laser frazionato CO2 Pixel Alma in donne con VBD, tramite:

- La variazione del trofismo vestibolare quantificata attraverso la rilevazione ecografica ad alta frequenza (20 MHz) con il sistema Derma Scan C, Cortex Technology, Denmark
- La valutazione della current perception threshold (CPT), parametro che quantifica la sensibilità delle fibre nervose vestibolari attraverso il dispositivo Neurometer CPT/C electrodiagnostic neurostimulator (Neurotron, Inc., Baltimore, MD)

Obiettivo secondario sarà la variazione sintomatologica valutata attraverso i seguenti strumenti:

- Quantificazione tramite scala analogica visiva (VAS) da 0 a 10 (0=assenza di sintomi, 10=intensità massima del sintomo) dei seguenti parametri:
 - Dispareunia e bruciore/dolore
 - Swab test: intensità del dolore ed ipersensibilità al tocco tramite cotton-fioc dell'area vestibolare
- Somministrazione dei seguenti questionari validati, opportunamente tradotti in italiano:
 - Female Sexual Function Index (FSFI)
 - Vulvar Pain Functional Questionnaire (V-Q)

3-DESCRIZIONE DEL DISEGNO DELLA RICERCA

3.1 Piano complessivo dello studio

Trattasi di uno studio prospettico osservazionale da attuarsi presso il Servizio di Patologia del Tratto Genitale Inferiore dell'Osp. V. Buzzi di Milano.

I soggetti arruolati nello studio, verranno sottoposti ad un ciclo di trattamento laser vestibolare caratterizzato da tre sedute a distanza di circa 30 giorni. A questo seguirà una visita di follow-up a 2 e 4 mesi dalla fine dell'ultima sessione laser.

Verificati i criteri di eleggibilità, si informerà la paziente degli obiettivi dello studio e si otterrà consenso informato scritto. Dopo l'ottenimento del consenso informato scritto la paziente verrà sottoposta a:

- a. Esame obiettivo bimanuale di vagina-utero ed annessi
- b. Vulvoscoopia con documentazione fotografica vulvo-vestibolare
- c. Palpazione tramite cotton dell'area vestibolare (Swab test) con quantificazione del dolore tramite scala analogica visiva.

3.2 Durata dello studio

Ogni paziente eleggibile parteciperà allo studio per un periodo di circa 5-8 mesi.

3.3 Approvazione del Comitato Etico

Prima di procedere nello studio verrà ottenuta autorizzazione dal corrispettivo Comitato Etico competente per il Centro sperimentatore coinvolti nella ricerca.

3.4 Razionale dello studio e selezione dei soggetti.

Attualmente ci sono limitati studi riguardo l'utilizzo vestibolare del laser frazionato a CO2 per il trattamento del dolore vulvare e della dispareunia riferibili alla VBD, e nessuno di questi ha quantificato con parametri oggettivi strumentali le variazioni ottenute (Murina et Al, 2016). Il laser frazionato vaginale è stato recentemente applicato nel trattamento dei sintomi riferibili alla sindrome genito-urinaria della menopausa. Valutazioni istologiche hanno evidenziato come l'effetto termico del laser applicato al tessuto vaginale induce una cascata di eventi così riassumibile (Zerbinati N. et Al, 2015):

- Produzione di heat shock proteins
- Stimolazione fattori di crescita
- Attivazione fibroblastica
- Produzione nuova matrice extracellulare (fibre collagene ed elastiche)
- Ispessimento epiteliale con allungamento papille dermiche

Studi osservazionali non controllati hanno evidenziato un miglioramento dei sintomi riferibili alla sindrome genitourinaria della menopausa (secchezza, bruciore e dispareunia) a 12 settimane dall'applicazione di tre sedute laser a cadenza circa mensile.

Il vestibolo vaginale rappresenta un distretto dove la presenza di una fitta rete terminazioni sensitive e l'elevata concentrazione di recettori estrogenici ed androgenici, sono elemento di sicura peculiarità.

Nelle pazienti con VBD si evidenziano sovente alterazioni trofiche vestibolari, che portano le terminazioni nervose a superficializzarsi rendendo la nocicezione ancora più amplificata. L'ipotesi d'azione del laser nel dolore vestibolare sarebbe riconducibile ad un meccanismo di "coming back" e "dispersione" delle terminazioni nervose vestibolari, derivante dall'attivazione fibroblastica con una conseguente neocollagenesi ed allungamento delle papille dermiche.

4. Criteri d'inclusione ed esclusione dei soggetti

4.1 Criteri d'inclusione dei soggetti

1. Accettare di partecipare alla ricerca mediante rilascio di consenso informato scritto
2. Donne con almeno 18 anni di età e prima della menopausa (assenza di mestruazioni per 12 mesi)
3. Dolore vulvare da moderato ad intenso (minimo 5/10 su una scala numerica in almeno il 90 % dei tentativi di rapporto sessuale con penetrazione)
4. Soggetti affetti da VBD da almeno 6 mesi
5. Dolore limitato al vestibolo durante il rapporto sessuale o per attività che esercitano pressione sul vestibolo (inserimento tamponi, jeans o pantaloni stretti, utilizzo della bicicletta od equitazione)
5. Soggetti disposti ad avere una sessualità attiva nell'intervallo tra le visite

4.2 Criteri d'esclusione dei soggetti

1. Ipersensibilità ed intolleranza al laser
2. Alterazioni patologiche significative all'esame obiettivo

3. Condizioni fisiche o psicologiche che a giudizio dello sperimentatore rendano il soggetto ineleggibile allo studio
4. Disfunzione moderata o severa del pavimento pelvico con ipertono, determinata clinicamente da uno degli operatori del team di sperimentatori
5. Infezioni attive vulvo-vaginali (es.candidosi,herpes o MST)
6. Presenza di prolasso uterovaginale oltre i residui imenali
7. Sanguinamento vaginale di origine non nota
8. Soggetti con anamnesi alterazioni nella cicatrizzazione delle ferite (es.cheloidi)
9. Soggetti che abbiano una condizione od un comportamento che a giudizio del responsabile dello studio siano inadatti ad essere reclutati nel trial di ricerca

5. Criteri di abbandono dello studio

Il responsabile dello studio potrà interrompere la partecipazione dei soggetti dallo studio in ogni momento qualora questo rappresenti la decisione migliore per i partecipanti alla sperimentazione. Come pure ogni soggetto potrà abbandonare lo studio in ogni momento per qualsiasi motivo. La motivazione dell'abbandono prematuro dello studio dovrà essere riportata nella scheda di registrazione individuale (case report form-CRF).

La ragione di abbandono dello studio verrà catalogata come segue:

- Evento avverso: il soggetto presenta un evento intollerabile che può essere o non essere correlato alla procedura oggetto della sperimentazione
- Abbandono spontaneo: il soggetto esce dalla sperimentazione per ragioni personali, ad esclusione di un evento avverso
- Concomitante violazione medica: il soggetto inizia la sperimentazione ma interrompe o varia le raccomandazioni prescritte, che a giudizio del responsabile dello studio, possano influenzare negativamente il decorso della sperimentazione
- Perdita al follow-up: il soggetto non si presenta alle visite di controllo, malgrado un contatto di richiamo telefonico o tramite mail (almeno 3 solleciti)
- Altro: ogni motivazione non prevista nelle sopraelencate categorie

5. Procedure cliniche.

Le procedure cliniche inerenti allo svolgimento dello studio sono di seguito descritte, e riassunte in Appendice 1.

5.1. Selezione dei soggetti (Visita1). Le procedure cliniche inerenti allo svolgimento dello studio sono di seguito descritte, e riassunte in Appendice 1.

5.1. Selezione dei soggetti (Visita1). I candidati a prendere parte allo studio verranno valutati nell'arco di tempo massimo di 28 giorni prima dell'arruolamento. I soggetti verranno informati riguardo il disegno dello studio, le procedure ed i rischi prima dell'inizio di ogni test o procedura.

Si procederà nella valutazione dei soggetti da arruolare nel modo seguente:

- Raccolta anamnesi medica generale
- Raccolta anamnesi ostetrico-ginecologica
- Quantificazione tramite scala analogica visiva (VAS) da 0 a 10 (0=assenza di sintomi, 10=intensità massima del sintomo) dei seguenti parametri: dispareunia e bruciore/dolore
- Somministrazione dei seguenti questionari validati: FSFI e V-Q
- Esecuzione di esame vulvoscopico con documentazione fotografica dell'area vulvo-vastibolare
- Valutazione clinica della muscolatura del pavimento pelvico con attribuzione di uno score riguardante l'eventuale ipertono così identificato: grado 0= no ipertonicità; grado 1= lieve ipertonicità; grado 2= moderato ipertonicità e grado 3= ipertonicità grave
- Palpazione tramite cotton dell'area vestibolare (Swab test) con quantificazione del dolore tramite scala analogica visiva. Si attribuirà una media di valutazione dei dati raccolti nelle diverse aree del vestibolo.
- Valutazione delle caratteristiche morfologiche vestibolari (Appendice 2)

5.2. Tempo 0 dello studio: Trattamento 1 (Visita 2)

I soggetti arruolati nello studio nell'arco massimo dei 28 giorni precedenti dopo aver sottoscritto il modulo di consenso informato, verranno sottoposti al seguente percorso diagnostico-terapeutico:

- Valutazione di ogni variazione anamnestica occorsa dalla visita di selezione
- Esecuzione di esame vulvoscopico con documentazione fotografica dell'area vulvo-vastibolare

- Valutazione clinica della muscolatura del pavimento pelvico con attribuzione di uno score riguardante l'eventuale ipertono così identificato: grado 0= no ipertonicità; grado 1= lieve ipertonicità; grado 2= moderato ipertonicità e grado 3= ipertonicità grave
- Palpazione tramite cotton dell'area vestibolare (Swab test) con quantificazione del dolore tramite scala analogica visiva
- Valutazione delle caratteristiche morfologiche vestibolari (Appendice 2)
- Valutazione dei seguenti parametri oggettivi vestibolari:
 - Misurazione dello spessore della mucosa vestibolare tramite rilevazione ecografica ad alta frequenza utilizzando il dispositivo Dermascan C
 - Quantificazione della current perception threshold (CPT), parametro che quantifica la sensibilità delle fibre nervose vestibolari, misurata attraverso il dispositivo Neurometer CPT/C electrodiagnostic neurostimulator (Neurotron, Inc., Baltimore, MD)
- Applicazione opzionale di crema anestetica a base di lidocaina+prilocaina in sede vestibolare, da rimuoversi prima del trattamento
- Trattamento dell'intera area vestibolare con laser CO2 frazionato Pixel Alma
- Verranno consegnate alla paziente, previa spiegazione, le istruzioni da seguire nel follow-up (Appendice 3)
- Verrà registrato ogni evento avverso

5.3. Tempo 28 ± 4 giorni dello studio: Trattamento 2 (Visita 3).

Ogni soggetto verrà sottoposto al seguente percorso diagnostico-terapeutico:

- Valutazione di ogni variazione anamnestica occorsa dalla visita di selezione
- Palpazione tramite cotton dell'area vestibolare (Swab test) con quantificazione del dolore tramite scala analogica visiva
- Valutazione delle caratteristiche morfologiche vestibolari (Appendice 2)
- Applicazione opzionale di crema anestetica a base di lidocaina+prilocaina in sede vestibolare, da rimuoversi prima del trattamento
- Verrà trattata l'intera area vestibolare con laser CO2 frazionato Pixel Alma
- Verrà registrato ogni evento avverso

5.4. Tempo 56 ± 4 giorni dello studio: Trattamento 3 (Visita 4).

Ogni soggetto verrà sottoposto al seguente percorso diagnostico-terapeutico:

- Valutazione di ogni variazione anamnestica occorsa dalla visita di selezione
- Palpazione tramite cotton dell'area vestibolare (Swab test) con quantificazione del dolore tramite scala analogica visiva
- Valutazione delle caratteristiche morfologiche vestibolari (Appendice 2)
- Applicazione opzionale di crema anestetica a base di lidocaina+prilocaina in sede vestibolare, da rimuoversi prima del trattamento
- Verrà trattata l'intera area vestibolare con laser CO2 frazionato Pixel Alma
- Verrà registrato ogni evento avverso

5.4. Tempo 84 ± 4 giorni dello studio: Follow-Up 1 (Visita 5)

Si procederà come segue:

- Quantificazione tramite scala analogica visiva (VAS) da 0 a 10 (0=assenza di sintomi, 10=intensità massima del sintomo) dei seguenti parametri: dispareunia e bruciore/dolore
- Somministrazione dei questionari: FSFI e V-Q
- Esecuzione di esame vulvoscopico con documentazione fotografica dell'area vulvo-vestibolare
- Palpazione tramite cotton dell'area vestibolare (Swab test) con quantificazione del dolore tramite scala analogica visiva
- Valutazione delle caratteristiche morfologiche vestibolari
- Valutazione dei seguenti parametri oggettivi vestibolari:
 - Misurazione dello spessore della mucosa vestibolare tramite rilevazione ecografica ad alta frequenza utilizzando il dispositivo Dermascan C
 - Quantificazione della current perception threshold (CPT), parametro che quantifica la sensibilità delle fibre nervose vestibolari, misurata attraverso il dispositivo Neurometer CPT/C electrodiagnostic neurostimulator (Neurotron, Inc., Baltimore, MD)
- Verrà registrato ogni evento avverso

5.5. Tempo 120 ± 7 giorni dello studio: Follow-Up 2 (Visita 6)

Si procederà come segue:

- Quantificazione tramite scala analogica visiva (VAS) da 0 a 10 (0=assenza di sintomi, 10=intensità massima del sintomo) dei seguenti parametri: dispareunia e bruciore/dolore
- Somministrazione dei questionari: FSFI e V-Q
- Esecuzione di esame vulvoscopico con documentazione fotografica dell'area vulvo-vestibolare
- Palpazione tramite cotton dell'area vestibolare (Swab test) con quantificazione del dolore tramite scala analogica visiva
- Valutazione delle caratteristiche morfologiche vestibolari
- Valutazione dei seguenti parametri oggettivi vestibolari:
 - Misurazione dello spessore della mucosa vestibolare tramite rilevazione ecografica ad alta frequenza utilizzando il dispositivo Dermascan C
 - Quantificazione della current perception threshold (CPT), parametro che quantifica la sensibilità delle fibre nervose vestibolari, misurata attraverso il dispositivo Neurometer CPT/C electrodiagnostic neurostimulator (Neurotron, Inc., Baltimore, MD)
- Verrà registrato ogni evento avverso

6. Valutazione degli eventi avversi

Si definisce evento avverso (AE) qualsiasi evento indesiderato di carattere medico che si verifichi in una paziente durante il periodo di studio: vale a dire qualsiasi segno, sintomo o patologia (anche l'esacerbazione di una patologia esistente) sfavorevole e non previsto.

Gli AE vengono classificati in vario modo, e nello specifico:

- AE Seri sono quelli che pongono a rischio la vita del soggetto, creano una persistente disabilità od incapacità o comportino un'ospedalizzazione
- AE Non Seri sono quelli non compresi nelle categorie sopradescritte
- AE Attesi sono quelli già osservati in precedenza e descritti nel disegno dello studio
- AE Inattesi sono quelli mai verificatisi in relazione alla procedura in uso

6.1 Report degli eventi avversi

Ogni AE verrà descritto e riportato nella scheda personale della paziente, nei seguenti termini:

- Durata con indicazione della data di inizio e fine
- Prevedibilità
- Severità: con classificazione come lieve (non causante limitazione delle normali attività), moderato (causante alcune limitazioni delle normali attività) o severo (causante significative limitazioni od inabilità delle normali attività)
- Provvedimenti assunti
- Relazione con la procedura oggetto della sperimentazione: correlato, probabilmente correlato o non correlato
- Evoluzione : risolto, persistente con o meno necessità di trattamento o richiedente ospedalizzazione

6.2. Rischi

I rischi della procedura possono essere arrossamento, gonfiore, infiammazione, bruciore ed irritazione in corrispondenza ed attorno all'area trattata, finora a presenza transitoria

7. Modalità' di gestione ed analisi dei dati.

7.1 Determinazione della numerosità del campione

E' stata scelta un'ampiezza di un campione pari a 30 soggetti in quanto trattasi di studio pilota e tale numerosità di campione è da ritenersi sufficiente per documentare prospetticamente le modificazioni oggettive vulvo-vestibolari nelle donne con VBD.

7.2 Gestione dei dati

I questionari completi verranno registrati in un database specifico e revisionati manualmente per verificarne la completezza. Verrà effettuato l'inserimento dei dati che saranno controllati elettronicamente per accertarne la completezza, la coerenza e la plausibilità.

7.3 Dati fotografici

Le modificazioni vulvo-vestibolari verranno comparate prospetticamente comparando le immagini vulvo-vestibolari alla visita 5 e 6 in relazione a quelle basali.

7.4 Analisi dei dati

Le caratteristiche generali dei due gruppi e la sintomatologia clinica all'ingresso in studio verranno descritte utilizzando le medie le mediane e le relative misure di dispersione o le percentuali. Tali caratteristiche verranno confrontate utilizzando il t test od il test del chi quadrato come opportuno.

Appendice 1.

Sintesi del programma e delle procedure dello studio

Giorni dello studio	Fino a -28	0 ± 4	28 ± 4	56 ± 4	84 ± 4*	120 ± 7 o IP
Visita	1	2 (T1)	3 (T2)	4 (T3)	5(FU1)	6 (FU2)
Consenso Informato	X					
Criteri Incl./Escl.	X	X				
Anamnesi	X					
Es.Obiettivo	X					
Ecografia e valutazione CPT vestibolare		X			X	X
Questionari validati	X				X	X
VAS bruciore /dolore e dispareunia	X				X	X
Vulvosopia con foto	X	X			X	X
Cotton Swab test	X	X	X	X	X	X
Morfologia vestibolare	X	X	X	X	X	X
Procedura Laser		X	X	X		
Registraz. eventi avversi		X	X	X	X	X

IP=interruzione prematura. * Per i soggetti randomizzati alla procedura placebo vedere lo schema successivo. T= trattamento ; FU=follow-up

Appendice 2: Valutazione del trofismo vestibolare

Score del trofismo vestibolare

Osservazione	0-assente	1-lieve	2-moderato	3-severo
Petecchie				
Pallore				
Sfaldamento				
Secchezza				
Eritema				

Appendice 3: Istruzioni per la paziente

-La sede trattata può essere più sensibile, arrossata e può bruciare; questi disturbi sono generalmente transitori. Può essere utile l'applicazione di un panno freddo oppure un contenitore di gel refrigerante (20 minuti di applicazione con 20 minuti di pausa)

-Mantenere la zona idratata attraverso l'utilizzo di un prodotto adeguato che verrà prescritto dopo il trattamento

-Evitare di indossare indumenti troppo aderenti o di praticare un'intensa attività fisica per i 3-4 giorni successivi al trattamento

-Evitare rapporti sessuali per 10 giorni dopo il trattamento