

INDICE

1. Introduzione	pag. 3
1.1 La menopausa	pag. 5
1.2 I cambiamenti e il ruolo degli estrogeni nella menopausa	pag. 6
1.3 Atrofia vaginale	pag. 7
1.4 Possibilità terapeutiche	pag. 10
2. Il laser	pag. 14
2.1 Cenni storici	pag. 15
2.2 Funzionamento e caratteristiche del Laser	pag. 17
2.3 Tipi di Laser utilizzati in medicina	pag. 21
2.4 Il laser e le proprietà ottiche dei tessuti biologici	pag. 22
3. Il laser a CO₂	pag. 26
3.1 Fotoringiovanimento frazionato micro-ablativo	pag. 27
3.2 SmartXide ² V ² LR: Vulvo-Vaginal Laser Reshaping per il trattamento MonnaLisa Touch	pag. 31
3.3 Effetti del Laser a CO ₂ sulla mucosa vaginale	pag. 35
4. Scopo dello studio	pag. 41
5. Materiali e metodi	pag.43

6. Protocollo	pag. 45
7. Risultati	pag. 57
8. Soddisfazioni finali	pag. 68
9. Discussione e conclusioni	pag. 71
10. Prospettive future	pag. 74
11. Bibliografia	pag. 76

INTRODUZIONE

L'atrofia vaginale è una patologia molto diffusa nelle donne, soprattutto in menopausa. L'incidenza di tale patologia è sicuramente sottostimata in quanto le problematiche associate all'atrofia vaginale non sono sempre denunciate dalle pazienti al proprio medico di fiducia, nonostante la salute vaginale sia di fondamentale importanza per la salute sessuale.

Spesso è una problematica sconosciuta sia alle pazienti che ai medici, tanto è vero che, da una indagine sulla salute vaginale delle donne europee in post-menopausa, nell'ambito di un'intervista europea condotta su larga scala (4201 donne) mirata a indagare le opinioni, le attitudini e le percezioni delle donne in età climaterica sulla menopausa in generale e sulle terapie della sintomatologia menopausale, è emerso che le donne europee devono e vogliono essere informate ed educate meglio sulle implicazioni dell'atrofia vaginale per la loro qualità di vita⁽¹⁾. Ma l'aspetto più preoccupante è che da un altro studio nord-americano risulta che soltanto il 25% circa delle donne che ne soffre comunica spontaneamente questi problemi al proprio medico curante per pudore o ritrosia, ed il 70% delle intervistate riporta che solo raramente (o addirittura mai!) il proprio medico rivolge loro domande su problemi come la secchezza vaginale⁽²⁾.

Per poter capire e inquadrare tutte le problematiche correlate a questa delicata fase della vita di ogni donna è opportuno soffermarsi a valutare come il ruolo sociale e culturale della donna ha subito una metamorfosi nel corso dell'ultimo secolo. Nel 1900 l'aspettativa di vita di una donna coincideva con la fine dell'età fertile e per quelle donne che superavano la menopausa iniziava un deterioramento della vita sociale e di relazione. Oggi più del 95% delle donne raggiunge l'età della menopausa con un'aspettativa di vita, per una 65-enne, di 21,9 anni⁽³⁾. La donna cinquantenne degli anni 2000 è una donna forte, attiva, audace, grintosa che si pone al centro della vita sociale, lavorativa e collettiva ed è consapevole che davanti a sé ha ancora molti anni da vivere. Per

questo motivo c'è la necessità di focalizzarsi sulle problematiche e sulle esigenze della donna in età pre e post-menopausale.

1.1 LA MENOPAUSA

Il termine climaterio comprende un lungo periodo della vita della donna, durante il quale la menopausa rappresenta l'evento critico. È quindi quel periodo della vita che precede (pre-menopausa) e che segue (post-menopausa) la menopausa. È un periodo che si caratterizza per una serie di modificazioni che porteranno alla scomparsa e all'assenza delle mestruazioni e successivamente alla comparsa dei sintomi e dei segni che caratterizzeranno la post-menopausa.

La peri-menopausa comprende il periodo che immediatamente precede la menopausa fino ai primi 12 mesi dopo l'ultima mestruazione.

La menopausa è un fenomeno fisiologico che varia da individuo a individuo e a cui ogni donna va incontro in media all'età di circa 50 anni. Si definisce menopausa spontanea la definitiva cessazione dei cicli mestruali dovuta alla perdita della funzionalità ovarica, la cui diagnosi avviene a posteriori dopo 12 mesi consecutivi di assenza di flussi mestruali (in mancanza di altre cause patologiche o fisiologiche).

Si definisce invece menopausa precoce o prematura la cessazione della funzionalità ovarica che si verifica prima dei 40 anni e può essere sia spontanea che indotta. Molte donne, infatti, vanno incontro alla cessazione delle mestruazioni, e quindi ad una menopausa indotta, in seguito a interventi chirurgici con rimozione di entrambe le ovaie o in seguito all'assunzione di farmaci che sopprimono la funzione ovarica come radiazioni, chemioterapia e farmaci antitumorali come il tamoxifene.

Con il termine post-menopausa si intende tutto quel periodo che segue l'ultima mestruazione (sia da menopausa spontanea o indotta).

1.2 I CAMBIAMENTI E IL RUOLO DEGLI ESTROGENI NELLA MENOPAUSA

La donna nella sua transizione dall'età fertile alla menopausa subisce dei cambiamenti non solo ormonali ma anche morfologici e psicologici. Terminando la funzionalità ovarica si avrà una riduzione dei livelli di estrogeni e la cessazione della produzione di progesterone a cui seguirà, per effetto di feedback, un aumento dei livelli di FSH e LH.

Il primo sintomo che ogni donna, che si avvicina alla menopausa, avverte è l'irregolarità del ritmo e della quantità di flusso mestruale che con il tempo cesserà definitivamente lasciando spazio ai sintomi vasomotori (sudorazioni notturne, vampate), tipici della carenza estrogenica, alla difficoltà di concentrazione, irritabilità, cefalea, problemi di memoria e ai disturbi del sonno con difficoltà ad addormentarsi. Questi, presenti in un'ampia percentuale di donne, sono definiti sintomi o effetti a "breve termine" in quanto tendono ad esaurirsi nel tempo. Sono invece sintomi o conseguenze a medio e lungo termine, in quanto tendono a peggiorare nel tempo, i disturbi del trofismo genito-urinario come infezioni vaginali ricorrenti (il pH non è più acido in quanto vengono a mancare gli estrogeni), bruciore, prurito vulvare e vaginale, calore, dispareunia e secchezza vaginale fino ad arrivare all'atrofia vulvo-vaginale; e i disturbi dell'apparato urinario come incontinenza urinaria, pollachiuria, nicturia, cistiti recidivanti e tenesmo vescicale dovuti all'atrofia uretrale.

1.3 ATROFIA VAGINALE

Con il termine atrofia vaginale si intendono tutti quei cambiamenti e quelle modificazioni che avvengono, in seguito alla perdita della produzione di estrogeni da parte delle ovaie, a livello del tessuto vaginale e che comportano irritazione, bruciore, prurito, infiammazione, secchezza e dispareunia^{(4), (5)}.

Sintomi che sono presenti in più della metà delle donne in post-menopausa e che influiscono in maniera significativa sulla vita sociale e sessuale. Molte donne non ne parlano con il proprio medico per timore o perché associano l'avvento della menopausa con il termine della fertilità e con l'inizio della "vecchiaia", e allo stesso tempo il medico raramente rivolge domande sui problemi correlati ai cambiamenti e ai disturbi vulvo-vaginali.

Recenti studi sulla prevalenza dei sintomi dell'atrofia vulvo-vaginale hanno mostrato che circa il 50% delle donne in post-menopausa ha riferito almeno un sintomo associato a questa condizione. Nonostante l'influenza che l'atrofia vulvo-vaginale ha sulla qualità di vita, sulle relazioni e sulla funzione sessuale in menopausa, rimane un argomento tabù durante le visite ginecologiche di routine. Per questo motivo i medici dovrebbero essere più attivi al fine di diagnosticare correttamente e trattare i sintomi dell'atrofia vulvo-vaginale in maniera adeguata^{(6),(7),(8),(9),(10)}.

L'atrofia vaginale si verifica sia in seguito a menopausa naturale, sia in seguito a menopausa precoce indotta da farmaci o da interventi chirurgici e clinicamente i sintomi si presentano 4-5 anni dopo.

Con l'avvicinarsi della menopausa i livelli di estrogeni circolanti iniziano a diminuire fino a scomparire del tutto e questo evento ha delle conseguenze ed è correlato alla riduzione della secrezione del liquido vaginale e dell'apporto di flusso sanguigno, alla diminuzione dei bacilli

di Doderlein, all'aumento del pH e all'alterazione istologica e morfologica dell'epitelio della mucosa vaginale.

Sull'epitelio vaginale sono presenti recettori per gli estrogeni (recettori alfa in vagina) i quali, legandosi ad essi, li attivano e determinano il mantenimento dell'elasticità e dello spessore dello strato mucoso e delle pareti vaginali.

Con la loro riduzione l'epitelio diventa meno vascolarizzato, più sottile e anche il glicogeno diminuisce. Inoltre cala anche la quantità di collagene nel tessuto connettivo, il quale ha funzione di sostegno dell'epitelio, e ciò determina la perdita della rugosità normale dell'interno della vagina. Tutti questi fattori contribuiscono al venir meno di una funzione importante dell'epitelio della mucosa vaginale ossia proteggere la stessa mucosa dallo sfregamento meccanico conseguente all'atto sessuale e quindi vi è una maggiore suscettibilità a traumi.

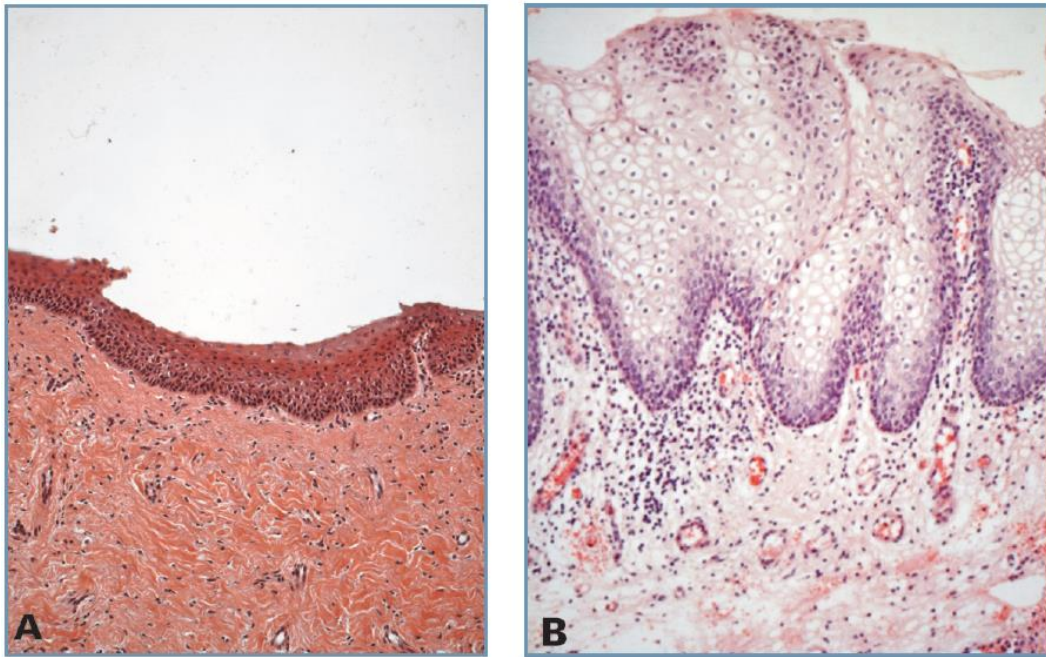


Fig.1 - Preparazioni istologiche della mucosa vaginale colorata con ematossilina e eosina (H&E).

(A): Mucosa vaginale in postmenopausa dove è presente atrofia correlate alla deficienza estrogenica con ridotta presenza di vasi e l'epitelio marcatamente assottigliato con scarsità di glicogeno.

(B): Mucosa vaginale in età fertile; la mucosa è ben vascolarizzata con l'epitelio costituito da un maggiore numero di strati di cellule, particolarmente ricche di glicogeno.

(Per gentile concessione del Prof. A. Calligaro Università di Pavia.)

L'interno della vagina perde la sua normale rugosità a causa della diminuzione del collagene nel tessuto connettivo della mucosa vaginale. L'assottigliamento dell'epitelio e la perdita delle pliche rugose vaginali si manifestano solitamente 2-3 anni dopo l'inizio della menopausa⁽¹¹⁾.

Atrofia vaginale e funzione sessuale sono strettamente correlate e incidono sulle abitudini e sulla qualità della vita di una donna. Infatti sono proprio le donne sessualmente attive quelle che riferiscono maggiormente il problema della secchezza vaginale in quanto lo correlano con il dolore durante il rapporto sessuale (dispareunia).

In particolare la vagina diventa più ristretta e più breve, l'introito può restringersi⁽¹²⁾. Queste modificazioni sono comunemente associate all'assenza di attività sessuale e/o alla disfunzione sessuale femminile^{(13),(14)}.

Un altro problema è rappresentato dall'alterazione della normale acidità vaginale che in età fertile si aggira attorno a valori di pH compresi tra 3,5 e 5,0 con la presenza di lattobacilli. Con la menopausa invece il pH vaginale tende ad aumentare portandosi a valori molto più basici cioè tra 6,0 e 8,0 e quindi tutto l'ecosistema vaginale si altera favorendo l'insorgenza di infezioni come cistiti, vaginiti e vaginosi dovute alla proliferazione di microrganismi patogeni che trovano un'ambiente adatto alla loro sopravvivenza. Da uno studio condotto su 87 donne di età compresa tra 35 e 60 anni è emerso che nelle donne in postmenopausa è presente una riduzione di lattobacilli con alterazione della composizione della microflora vaginale. Le popolazioni batteriche che sono state analizzate, sono state raggruppate in sei community state type che classificano le donne in postmenopausa come CST IV-A e CST IV-B con scarsa quantità di Lattobacilli; mentre CST IV-A è caratterizzato dalla presenza di Streptococcus e di Prevotella, e CST IV-B è caratterizzato dalla presenza di Atopobium. Questa modificazione della microflora vaginale è strettamente correlata alla presenza di atrofia vulvo-vaginale^{(15),(16),(17),(18),(19),(20)}.

1.4 POSSIBILITA' TERAPEUTICHE

La terapia dell'atrofia vaginale ha come obiettivi il miglioramento e il sollievo dei sintomi vaginali quali dispareunia superficiale e profonda, secchezza, infiammazione, perdite e sanguinamento vulvovaginale, ed il recupero della fisiologia vaginale con miglioramento del trofismo epiteliale.

I trattamenti ad oggi disponibili sono di due tipi:

1. Non ormonali e quindi non prescrittivi: fito-estrogeni, lubrificanti, idratanti, vitamine e pilocarpina.
2. Ormonali e quindi prescrittivi: terapia estrogenica sistemica e locale, Tibolone e Ospemifene.

I fito-estrogeni sono molecole non steroidee di origine vegetale derivanti dalla soia e dal trifoglio rosso. Si legano ai recettori degli estrogeni esercitando un effetto estrogenico-simile. Otto settimane di terapia orale con 40mg di isoflavoni del trifoglio rosso riducono le cellule parabasali ed aumentano le cellule superficiali, aumentando pertanto l'indice di maturazione vaginale, senza esercitare un effetto significativo sullo spessore endometriale⁽²¹⁾. In letteratura sono stati condotti diversi studi ma i risultati non hanno dimostrato ancora una chiara efficacia del loro utilizzo in menopausa nel trattamento dei sintomi distrofici. È necessario conoscere sia le proprietà dei singoli fito-estrogeni sia la loro farmacocinetica per poter effettuare studi clinici di lunga durata. Inoltre è tutt'ora dibattuto il rapporto rischio/beneficio dei fito-estrogeni con il cancro alla mammella.

I lubrificanti, utilizzati per diminuire la secchezza vaginale durante il rapporto, sono di due tipi: acquosi e oleosi. Le formulazioni acquose hanno meno controindicazioni e sono compatibili con l'utilizzo del preservativo, anche se, in alcune donne possono causare bruciore per i loro conservanti e per la componente alcolica. I lubrificanti oleosi, invece, non possono essere utilizzati con il preservativo in quanto possono causarne la rottura. Questi sono rimedi e soluzioni non a lungo termine ma esclusivamente finalizzate ad alleviare il fastidio della secchezza vaginale durante l'atto sessuale.

I prodotti idratanti sono polimeri complessi che si comportano come dei bioadesivi che aderiscono alle cellule epiteliali della parete vaginale e alle mucine trattenendo acqua. L'effetto positivo sui sintomi dell'atrofia vaginale è correlato al fatto che questi prodotti hanno la proprietà di

tamponi, determinando una riduzione del pH vaginale. Se utilizzati costantemente sembrano avere un effetto duraturo nel tempo⁽²²⁾.

La vitamina E si è visto che è efficace nell'aumentare la lubrificazione vaginale soltanto in uno studio⁽²³⁾.

È stato dimostrato che la Pilocarpina assunta per via orale è in grado di stimolare la lubrificazione vaginale. Da uno studio effettuato su donne che avevano effettuato la chemioterapia e che accusavano sintomi di secchezza vaginale è emerso un significativo miglioramento di questo sintomo⁽²⁴⁾.

La terapia ormonale sistemica (TOS o HRT) prevede la somministrazione di estrogeni associati a progestinici nelle pazienti non isterectomizzate, mentre solo estrogeni in quelle che hanno subito l'isterectomia. Viene somministrata secondo due schemi terapeutici: uno continuo e uno sequenziale. Quello continuo prevede la somministrazione continua di estrogeno e progestinico; invece lo schema sequenziale riproduce quello che avviene nel ciclo ovulatorio, cioè viene somministrato prima l'estrogeno in monoterapia e poi associato al progestinico. Le controindicazioni all'utilizzo della terapia ormonale sostitutiva sono: pregresso carcinoma mammario o dell'endometrio, alterazioni della funzionalità epatica, pregressa trombosi venosa o eventi cardiovascolari e presenza di perdite ematiche atipiche. L'indicazione primaria è il trattamento dei sintomi vasomotori moderati e severi.

Oggi la terapia ormonale sistemica è il più efficace trattamento per i sintomi moderati e severi in menopausa e il maggior beneficio si ha prima dei 60 anni o entro 10 anni dopo la menopausa. Altri sintomi correlati alla menopausa come artralgia, dolori muscolari, depressione, disturbi del sonno e atrofia vaginale potrebbero migliorare durante la terapia ormonale sistemica. La somministrazione di terapia ormonale sistemica individualizzata (includendo preparazioni androgeniche quando appropriate) può migliorare sia la sessualità che la qualità della vita ^{(25),(26),(27),(28)}.

Un'altra opportunità terapeutica è il Tibolone. È uno steroide sintetico il cui effetto è dovuto ai suoi metaboliti che hanno proprietà estrogeniche sul tessuto osseo e vaginale, proprietà androgeniche sul fegato e sul cervello e proprietà progestiniche sull'endometrio. Avendo effetto simile all'estrogeno migliora i sintomi vasomotori e psicologici, senza però agire sull'endometrio dove invece ha un effetto prevalentemente progestinico-simile. Non è però efficace su tutte le donne in menopausa e non sono disponibili ancora studi sul suo effetto e sul rischio del carcinoma mammario.

Infine c'è la terapia estrogenica vaginale locale. Essendo ad azione locale è sicuramente più efficace nel trattare i problemi vaginali e non ha gli effetti negativi sistemici della TOS. Sono estrogeni vaginali sotto forma di ovuli, tavolette o creme e non richiedono l'aggiunta del progestinico per proteggere l'endometrio. Se applicati regolarmente hanno dimostrato effetti benefici nel prevenire l'atrofia vaginale diminuendone la sintomatologia^{(29),(30)}.

Il 17 Maggio 2013 l'AIFA ha reso noto il via libera da parte della FDA di un nuovo farmaco per il trattamento dell'atrofia vaginale e vulvare nelle donne in post-menopausa. Questo farmaco si chiama Ospemifene il suo principio attivo è l'ospemifene, un modulatore selettivo del recettore degli estrogeni (SERM). Gli studi condotti su donne in post-menopausa con atrofia vulvo-vaginale, a cui è stato somministrato ospemifene (60mg/die per via orale per 12 mesi), hanno dimostrato che il farmaco ha un'attività positiva sull'epitelio vaginale, che riduce le cellule parabasali, aumenta le cellule superficiali e abbassa il pH vaginale, portando ad una conseguente riduzione dei sintomi come la secchezza vaginale e la dispareunia che sono associati all'atrofia vulvo-vaginale. Negli studi clinici condotti, ospemifene è stato generalmente ben tollerato. Le reazioni avverse riportate più comunemente comprendono: vampate di calore, perdite vaginali, spasmi muscolari e iperidrosi ^{(31),(32)}.

IL LASER

La parola laser deriva dall'acronimo, coniato da Gordon Gould nel 1959, "Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation" cioè amplificazione luminosa che sfrutta il fenomeno dell'emissione stimolata di radiazioni.

2.1 CENNI STORICI

Il fenomeno fisico fondamentale su cui si basa il funzionamento del laser è l'emissione stimolata.

La storia del laser risale agli inizi del secolo scorso quando Albert Einstein, nel suo trattato *Zur quantum theorie der Strahlung* del 1917⁽³³⁾, iniziò a teorizzare la possibilità di un'emissione stimolata della luce, diversa da quella spontanea. Dopo la brillante intuizione di Einstein ci volle, però, molto tempo prima di arrivare alla realizzazione vera e propria di un apparecchio laser. Il primo fu costruito nel 1953 da Charles Townes e venne chiamato MASER che significa "Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation": esso sfruttava lo stesso principio del laser ma invece della luce visibile utilizzava le microonde che sono più facili da maneggiare. Successivamente, nel 1958, un lavoro pubblicato da A.L.Schawlow e C.H.Towens propose un metodo per costruire un MASER per lunghezze d'onda appartenenti alla parte visibile dello spettro elettromagnetico. Soltanto due anni dopo, nel giugno del 1960, fu realizzato da T.H.Maimam⁽³⁴⁾ il primo laser (laser a rubino) sfruttando l'emissione luminosa di un cilindro di rubino posto tra due specchi posti ad opportuna distanza circondato da un tubo di vetro contenente gas sottoposto a scariche luminose di tipo impulsivo. Nel frattempo, nel dicembre di quello stesso anno, A.Javan e i suoi collaboratori annunciarono la scoperta del laser a Elio-Neon, il primo laser a gas in grado di produrre radiazione continua. I risultati ottenuti in questi anni furono di stimolo per altri ricercatori, i quali iniziarono a lavorare e ad approfondire sempre di più le conoscenze in questo

settore. Nacquero così i primi laser a semiconduttore nel 1962, mentre il laser a Neodimio, quello ad Argon e a CO₂ nel 1964.

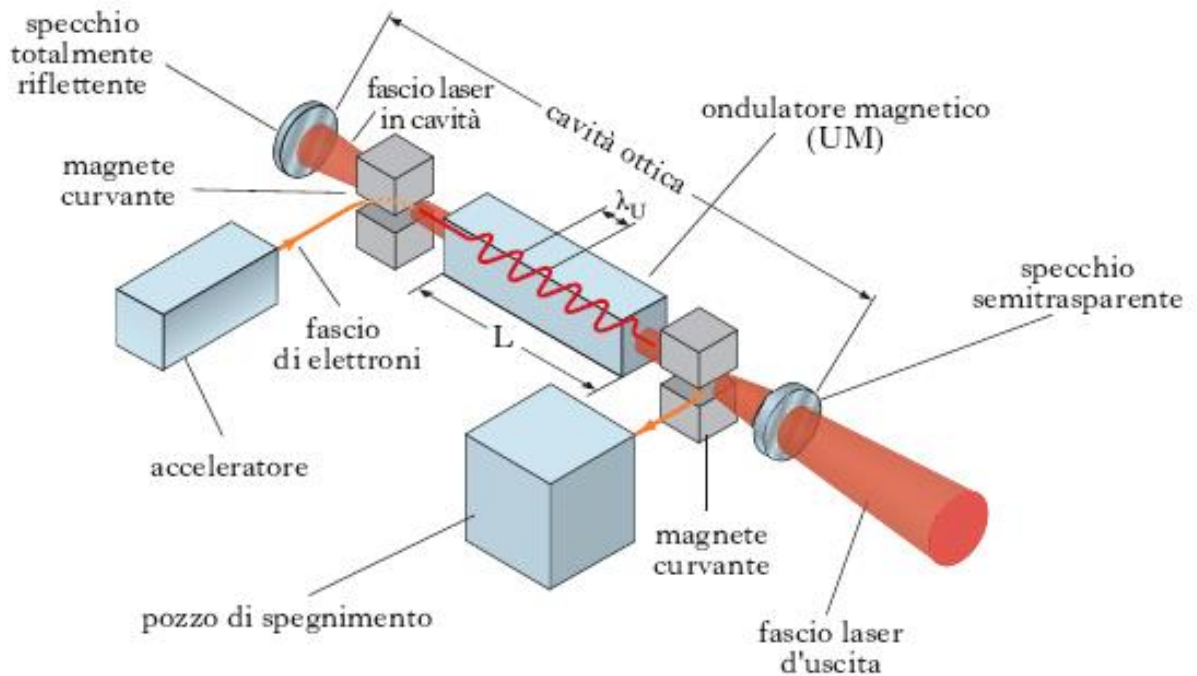


Fig.2 - Laser a elettroni liberi

In campo medico le prime applicazioni riguardavano l'ambito della patologie oculistiche; nel 1962 fu applicato da L.Goldman anche in dermatologia e successivamente G.J.Jako utilizzò per la chirurgia delle corde vocali un laser a CO₂.

2.2 FUNZIONAMENTO E CARATTERISTICHE DEL LASER

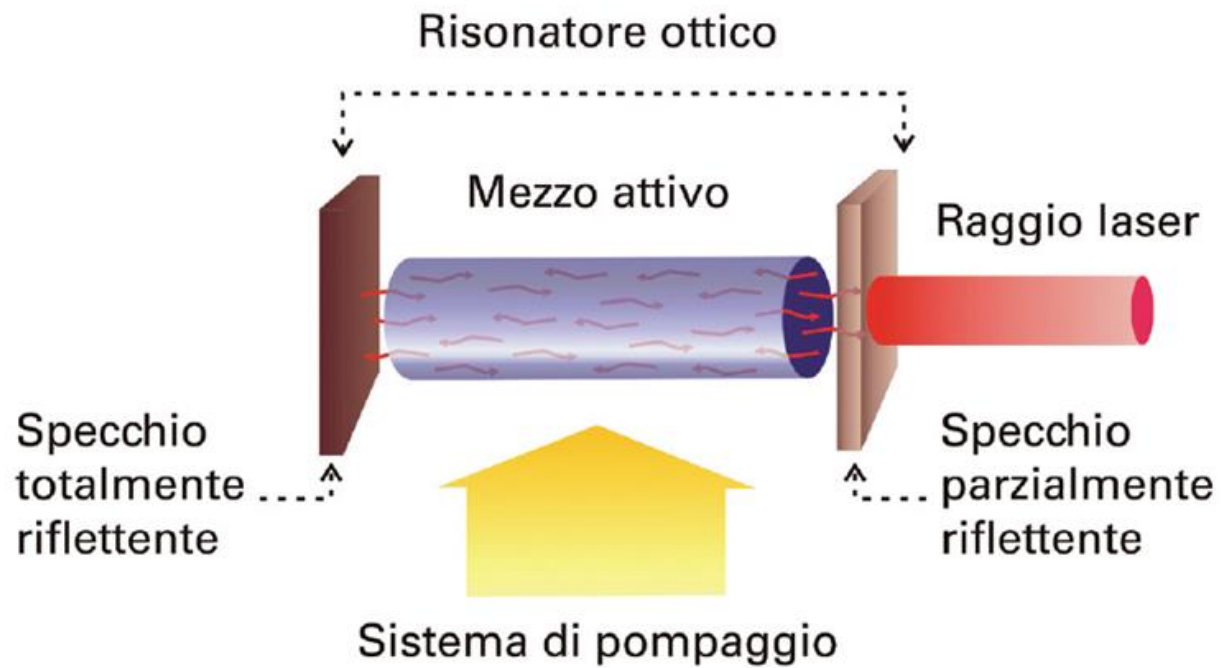


Fig.3 – Schema generale di un dispositivo laser.

Il dispositivo laser è costituito da tre elementi essenziali:

- Mezzo attivo,
- Sistema di pompaggio,
- Cavità risonante.

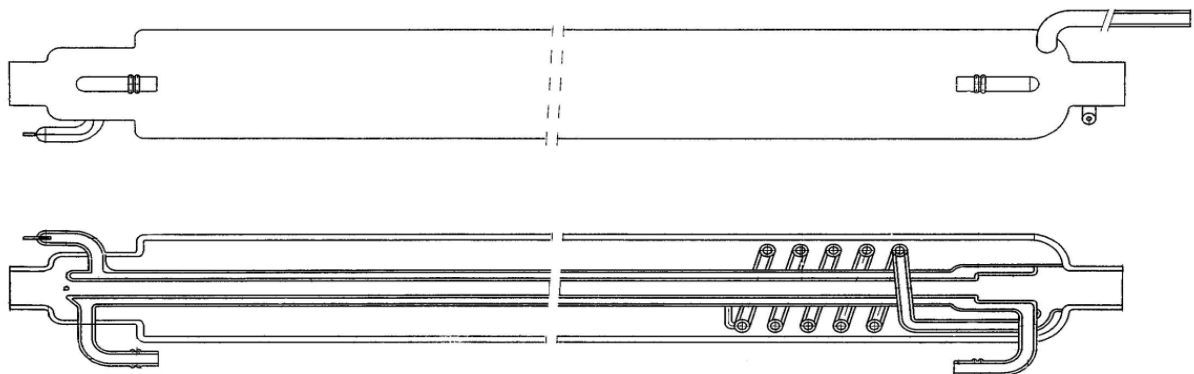


Fig.4- Risonatore CO₂ in DC. (Per gentile concessione dell'Ing. Nicola Imbriani)

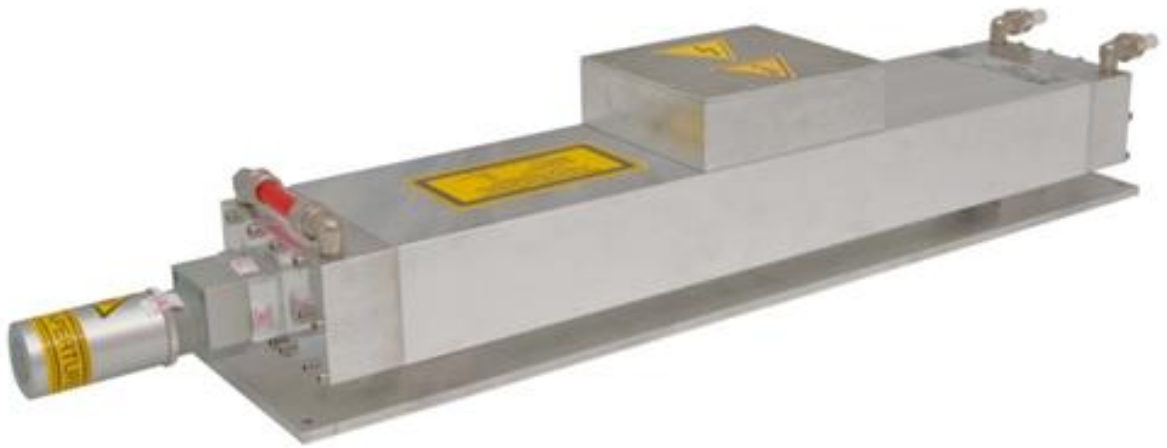


Fig.5 - Risonatore CO₂ a RF – Modulazione degli impulsi con emissione Ultrapulsata. (Per gentile concessione dell'Ing. Nicola Imbriani).

Il mezzo attivo è costituito da atomi, ioni, molecole e particelle di varia natura con stabili livelli energetici; il sistema di pompaggio permette il trasferimento di energia che consente un'eccitazione del materiale attivo; il risonatore ottico è l'elemento che purifica e seleziona la radiazione in base a direzione, frequenza e coerenza. Esso è costituito da due specchi paralleli (di Fabry-Perot dal nome degli scienziati che lo hanno inventato): di cui uno totalmente riflettente mentre l'altro semi-riflettente dal quale fuoriesce il raggio laser.

Il principio fisico sul quale si fonda la tecnologia laser è quello del salto di livello elettronico degli atomi interessati dal fenomeno di emissione stimolata. Attraverso il sistema di pompaggio viene trasmessa energia al mezzo attivo nel quale vengono a trovarsi particelle come molecole, atomi e ioni che da un livello energetico di base passano ad uno stato di eccitazione. Per le leggi della fisica questi elementi eccitati vanno incontro ad un decadimento energetico producendo un fotone e ritornando ad uno stato non eccitato o di base. Di questi fotoni, emessi all'interno della cavità risonante ottica in tutte le direzioni dello spazio, alcuni di essi che sono perpendicolari agli specchi, iniziano a oscillare avanti e indietro, contribuendo al salto energetico degli elementi del

mezzo attivo e perpetuando la formazione di radiazioni. Una volta che i fotoni hanno raggiunto una certa intensità riescono ad uscire dallo specchio parzialmente riflettente in un unico raggio laser monocromatico e in fase, in quanto generato dall'emissione stimolata di atomi tutti uguali, e rettilineo perché prodotto in seguito alle innumerevoli oscillazioni perpendicolari allo specchio che garantiscono la sua direzione.

Sono quattro le caratteristiche fondamentali della luce laser:

- unidirezionalità,
- coerenza,
- monocromaticità,
- brillantezza.

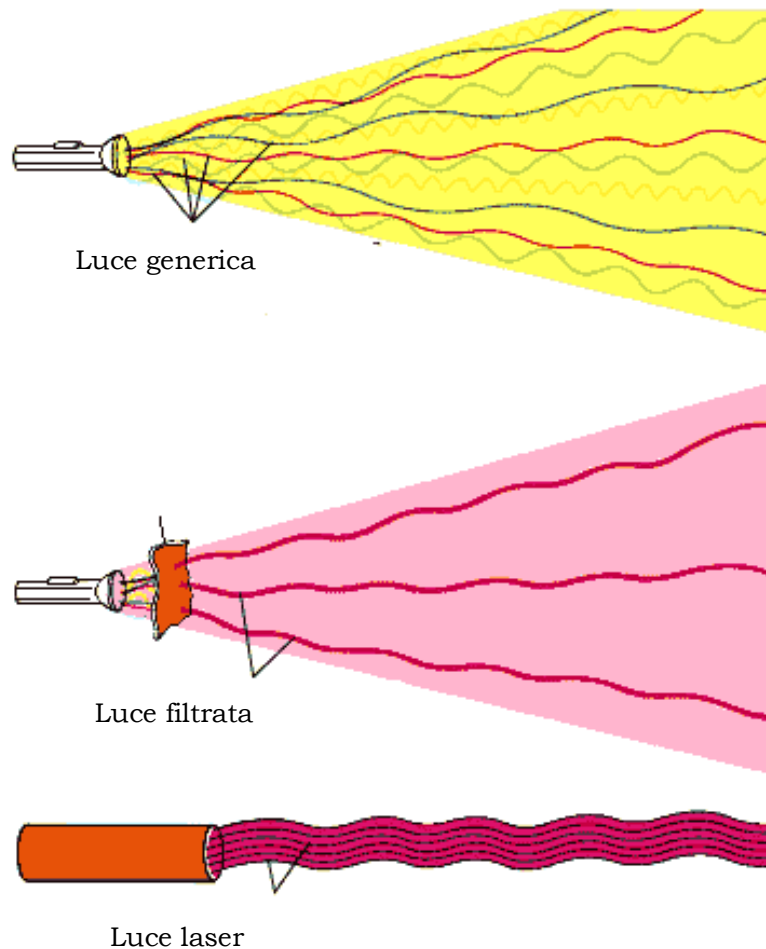


Fig.6 – Filtraggio della luce generica per ottenere la lunghezza d'onda del laser. (Per gentile concessione dell'Ing. Nicola Imbriani)

L'unidirezionalità deriva dalla struttura del laser stesso: grazie al sistema della cavità risonante ottica vengono selezionate le radiazioni che si presentano esattamente perpendicolari alle superfici dei due specchi.

La coerenza invece è una proprietà legata in maniera inscindibile al fenomeno dell'emissione stimolata; le singole emissioni avvengono in fase tra loro.

Inoltre, un'altra caratteristica del laser è quella di essere in grado di emettere radiazioni luminose monocromatiche, cioè composte tutte dalla stessa frequenza e quindi anche dello stesso colore.

Infine l'elemento più peculiare della luce laser è la brillantezza. È definita dalla potenza emessa per unità di superficie e per unità di angolo solido. Il laser possiede una brillantezza molto superiore a qualsiasi altra fonte di luce convenzionale grazie alla poca divergenza del suo fascio luminoso, e ciò consente di raggiungere una elevatissima densità di energia. Questa caratteristica gli permette di essere utilizzato per diverse applicazioni.

2.3 TIPI DI LASER UTILIZZATI IN MEDICINA

A seconda del mezzo attivo impiegato possiamo avere vari tipi di laser: quelli allo stato liquido (colorante o Dye-laser), allo stato solido (Alessandrite, Erblio o Er:YAG, Neodimio o Nd:YAG, Olmio o Ho:YAG, Rubino) e a gas (laser a CO₂ e HeNe). In realtà i laser disponibili in commercio sono tantissimi ma le ricerche e gli studi continuano in questo settore per il raggiungimento di due obiettivi: ricercare lunghezze d'onda ottimali in rapporto al loro tempo di emissione e migliorare il loro rendimento.

Le caratteristiche che contraddistinguono i diversi tipi di laser sono la forma d'onda, la lunghezza d'onda (dall'ultravioletto a onde maggiori e a onde millimetriche) e la potenza (dai MW ai mW).

Il laser a CO₂ è un laser a gas che sfrutta una miscela contenente anidride carbonica, che rappresenta l'elemento attivo, e altri gas come elio e azoto che servono per migliorarne l'efficienza. Il sistema di pompaggio, invece, è costituito da una scarica elettrica. Il suo funzionamento può essere sia a emissione continua che a impulsi.

2.4 IL LASER E LE PROPRIETA' OTTICHE DEI TESSUTI BIOLOGICI

Sono molteplici le branche della medicina che utilizzano il laser: ginecologia, otorinolaringoiatria, dermatologia, oncologia, urologia, oftalmologia, medicina estetica ecc. Diventa, perciò, fondamentale capire qual è il meccanismo d'interazione della luce laser con il tessuto biologico. Innanzitutto bisogna precisare che è errata la convinzione secondo la quale l'effetto prodotto sul tessuto sarà tanto maggiore quanto maggiore sarà l'energia disponibile o assorbita dal tessuto. È invece un concetto fondamentale il modo con cui quest'energia viene trasmessa al tessuto biologico, cioè in quali tempi e su quale superficie. Quindi possiamo dare le definizioni di alcune unità di misura che quantificano le radiazioni elettromagnetiche e sono importanti per capire l'interazione laser-tessuto.

Si definisce Potenza l'intensità di rilascio dell'energia (W); Dose o Fluena, la quantità di energia rilasciata per unità di area (J/cm^2); e l'Irradianza che è la potenza rilasciata per unità di superficie (W/cm^2).

Lunghezza d'onda e proprietà ottiche del mezzo sono due caratteristiche fondamentali che determinano il risultato dell'interazione tra onda elettromagnetica e tessuto biologico. Ogni mezzo o tessuto biologico è caratterizzato da sue peculiarità e differisce dal punto di vista morfologico rispetto ad altri. Se, però, consideriamo i tessuti organici come mezzi omogenei, possiamo analizzare quali sono i quattro diversi tipi di interazione che abbiamo quando un raggio laser viene diretto verso uno strato tissutale. Tenendo presente che il laser emette una radiazione con un raggio che risulta essere incidente sul tessuto bersaglio, possiamo avere:

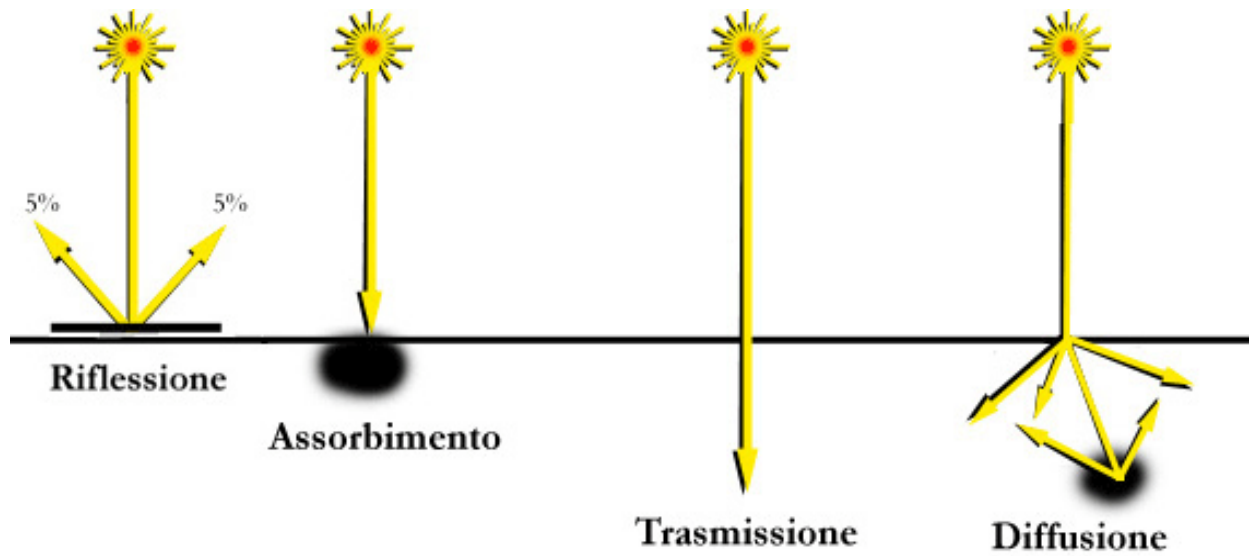


Fig.7 – Rappresentazione dell'interazione di un raggio laser incidente su un mezzo omogeneo.

- la riflessione di una parte della luce incidente sulla superficie del tessuto;
- l'assorbimento di parte dei raggi rimanenti.
- la trasmissione, attraverso il tessuto, di una frazione della radiazione penetrata;
- la diffusione di alcuni fotoni sia verso la superficie esterna che verso l'interno del tessuto;

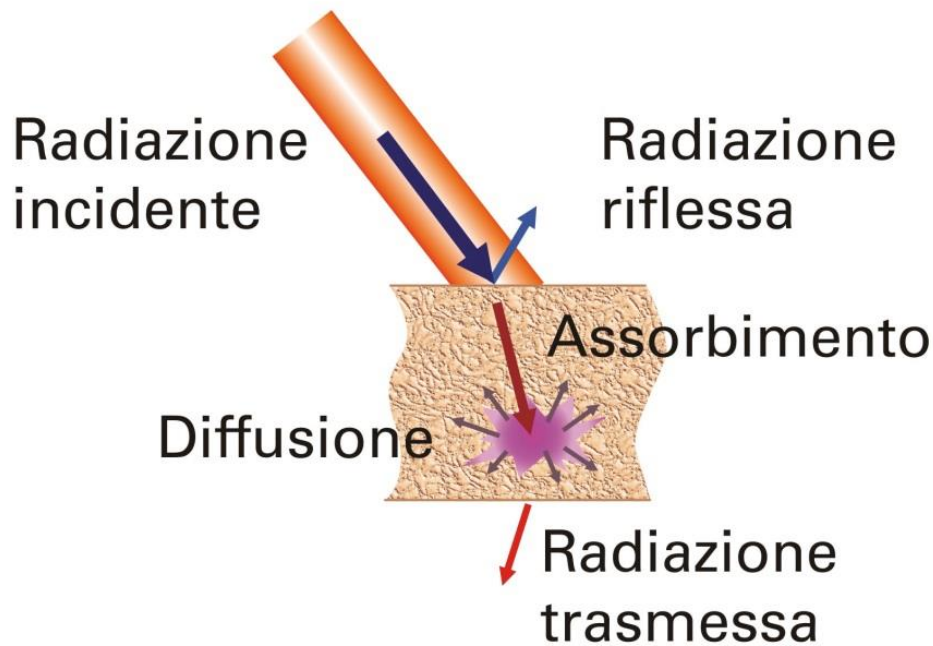


Fig.8 - Rappresentazione dei fenomeni ottici che sono presenti nell'interazione fra radiazione luminosa e tessuto.

Questi tipi di fenomeni non sono identici per ogni tessuto trattato, infatti la riflessione e la diffusione sono due eventi che dipendono essenzialmente dalle componenti strutturali, che sono non omogenee, del mezzo biologico. La probabilità che si verifichino queste interazioni tra luce laser e tessuto dipendono dalle proprietà ottiche del tessuto stesso. In campo medico solo quella parte dell'energia luminosa che viene assorbita dal tessuto, e trasformata in altre forme di energia (termica, meccanica o chimica), è in grado di determinare un effetto biologico.

Un'altra caratteristica altrettanto importante è la forma dell'onda laser nel tempo. Grazie alla disponibilità di laser a varie modalità di emissione - continua, pulsata, pseudocontinua e Q-switched - è possibile regolare la forma d'onda di un impulso ottenendo così diversi effetti sui tessuti come coagulazione, vaporizzazione, diffusione termica

ecc. La maggior parte dei laser trasforma l'energia luminosa in calore determinando effetti termici sul tessuto e a seconda della temperatura raggiunta in un certo volume, l'energia termica è in grado di vaporizzare, carbonizzare, coagulare, stimolare processi o scaldare il tessuto bersaglio.

IL LASER A CO₂

Il laser a CO₂, già conosciuto e ampiamente utilizzato nelle applicazioni chirurgiche in Ginecologia e Otorinolaringoiatria, deve il suo “salto di qualità” al settore della Dermatologia e della Medicina Estetica grazie alla novità della DOT Therapy ovvero del trattamento frazionato per il ringiovanimento della cute del viso.

3.1 FOTORINGIOVANIMENTO FRAZIONATO MICRO-ABLATIVO

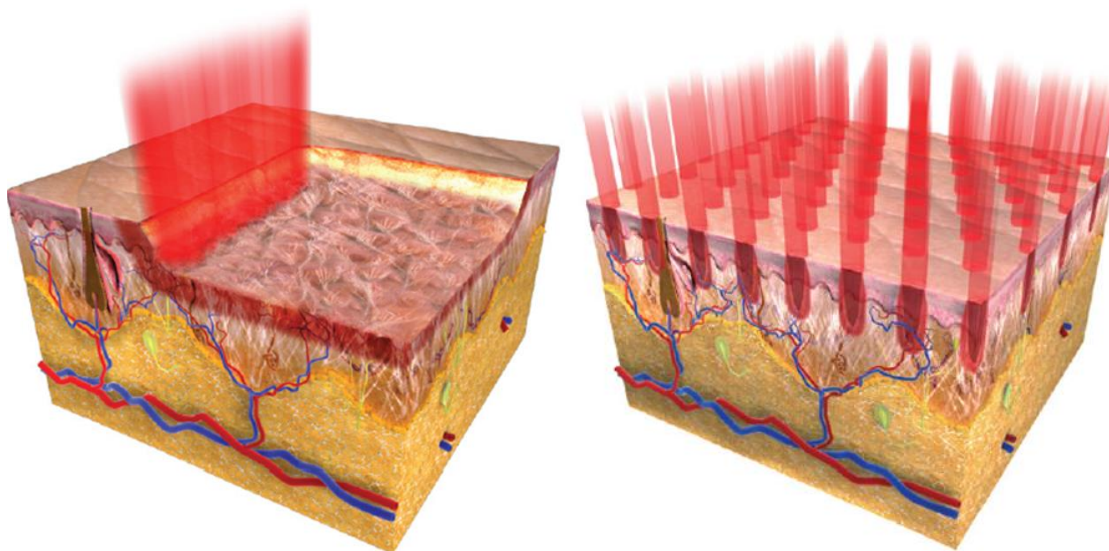


Fig.9 (a sinistra) – Rimozione degli strati superficiali della cute con scansione uniforme e non frazionata. Fig.10 (a destra) – Denaturazione termica della cute prodotta da un laser non ablativo frazionato.

Il gold-standard per il trattamento delle rughe e dei danni dovuti al foto invecchiamento cutaneo è sempre stato il “resurfacing” ablativo della pelle con sorgenti a CO₂. Questo trattamento consiste nel rimuovere gli strati superficiali della cute utilizzando un fascio laser su un’area di qualche cm². Possono essere trattate sia zone limitate o anche l’intero viso. I limiti di questa tecnica, legati ai lunghi tempi di guarigione, alla delicata gestione delle cure e delle medicazioni dopo l’intervento e ai

possibili effetti secondari, hanno orientato il mercato verso altre tecniche e metodi sempre meno invasivi. L'esigenza di un trattamento efficace combinato ad un ridotto tempo di recupero post-trattamento ha portato negli anni 2003-2004 alla diffusione di una nuova tecnica mini-invasiva che utilizzava un sistema laser frazionato. Questo nuovo laser a CO₂ frazionato non ablativo ha la caratteristica di irraggiare la pelle in modo frazionato e non più uniforme, producendo delle denaturazioni del tessuto in modo mirato su colonne profonde, separate tra loro e circondate da tessuto intatto non trattato. La denaturazione nelle colonne di tessuto crea un processo di riparazione favorito e accelerato dalle zone di tessuto sano che circondano quelle denaturate dal laser. Nonostante i vantaggi di minima invasività e tempi di recupero estremamente brevi, anche questa tecnica presenta lo svantaggio, non trascurabile, di una minore efficacia richiedendo la ripetizione di più sedute di trattamento soprattutto per le pazienti con segni di invecchiamento cutaneo più marcati ed evidenti.

In seguito a diversi studi, nei quali si è cercato di fondere i vantaggi dello Skin Resurfacing tradizionale con laser a CO₂ con quelli della nuova tecnica frazionata non ablativa e allo stesso tempo di eliminare gli svantaggi di entrambe le metodiche, è nata la DOT Therapy o Fractional Skin Resurfacing cioè Fotingiovanimento Frazionato Micro-Ablativo.

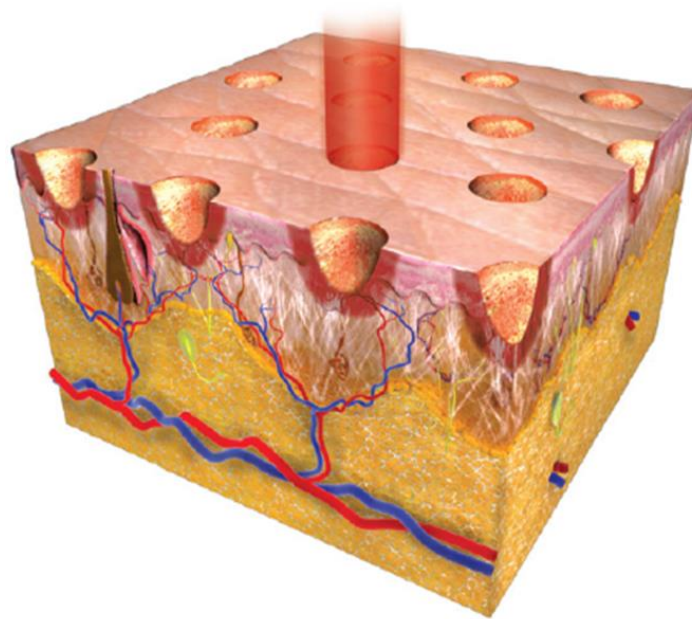


Fig.11 – Rimozione degli strati superficiali della cute con una scansione frazionata (DOT Therapy o Skin Resurfacing frazionato).

Per “ringiovanire” la pelle non basta quindi eliminare solamente gli strati superficiali della cute attenuando le rughe ma è importante arrivare in profondità per poter stimolare il derma a produrre nuova struttura della matrice extracellulare e nuovo collagene, i quali avranno la funzione di sostegno degli strati più superficiali. Per riuscire a stimolare in maniera efficace il derma e a preservare la superficie della cute è stata introdotta la forma d’impulso SmartPulse e la modalità di emissione SmartStack.

È stata realizzata una forma d’impulso, per il laser CO₂, definita SmartPulse in grado di ottenere ablazione e denaturazione termica in un solo impulso. L’elevata potenza che caratterizza la prima parte dell’impulso permette di rilasciare in tempi molto brevi una grande quantità di energia che determina una rapida ablazione dell’epidermide e dei primi strati del derma (che sono meno ricchi di acqua). Dopo la rapida vaporizzazione l’energia dell’impulso diffonde il calore in

profondità nel derma (che è ricco di acqua). In questo modo il derma riceve una corretta stimolazione per la contrazione immediata e per la sintesi e produzione di nuovo collagene.

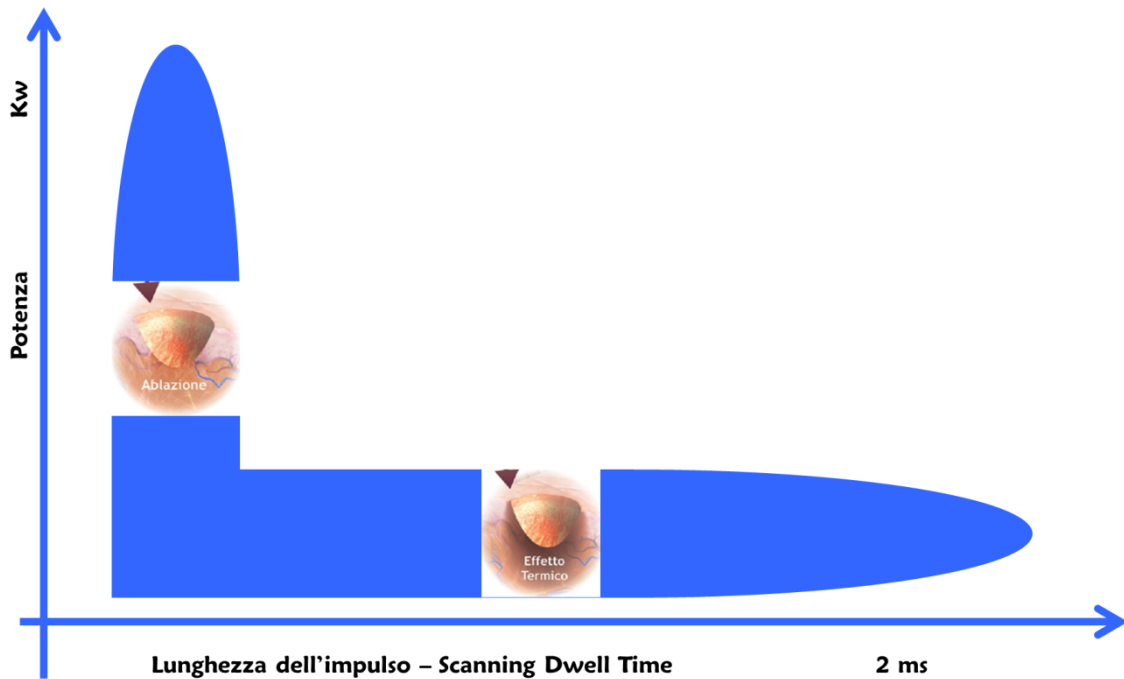


Fig.12 - SmartPulse: ablazione e denaturazione termica. (Per gentile concessione del Dott. Maurizio Filippini)

La modalità di emissione SmartStack permette, invece, di controllare con precisione la profondità di vaporizzazione della cute e l'azione termica, effettuando un numero di impulsi successivi nello stesso punto, variabile da 1 a 5 (corrispondenti allo Stack). Se si utilizza uno Stack maggiore di 1 significa frazionare l'impulso nel tempo; questo permette alla cute di raffreddarsi e minimizzare il danno termico tra due impulsi successivi.

SmartStack 1 SmartStack 2 SmartStack 3 SmartStack 4 SmartStack 5

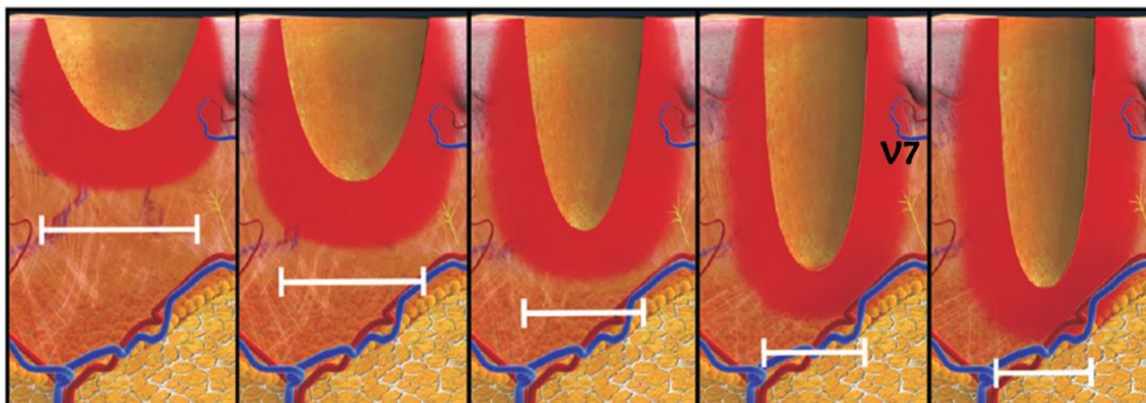


Fig.13 – Effetto dell'impulso sulla cute correlato all'aumento di livello SmartStack.

3.2 SmartXide² V²LR: VULVO-VAGINAL LASER RESHAPING PER IL TRATTAMENTO MONNALISA TOUCH

Gli studi e l'efficacia nell'applicazione della DOT Therapy in Dermatologia e Medicina Estetica ha suscitato nei ricercatori la possibilità di un accostamento tra foto-ringiovanimento della pelle del viso e della mucosa vaginale. Nel 2008 partirono le prime prove sperimentali che hanno portato allo sviluppo del SmartXide² V²LR cioè Vulvo-Vaginal Laser Reshaping e del trattamento MonnaLisa Touch.

È un vero e proprio trattamento laser di ringiovanimento vaginale che permette di ripristinare al periodo pre-menopausico la struttura della mucosa vaginale.

La vagina è un organo cavo virtuale fibro-muscolare a pareti sottili che si estende dall'ostio vaginale alla cervice uterina. È costituita da tre tonache: mucosa, muscolare e avventizia. La sottomucosa è assente. La tonaca mucosa è formata dall'epitelio di rivestimento e da una lamina propria.



Fig.14 - Preparazione istologica della mucosa vaginale colorata con ematossilina e eosina (H&E).
(Per gentile concessione del Prof. A. Calligaro Università di Pavia).

L'epitelio di rivestimento è del tipo pavimentoso, non cheratinizzato e costituito da più strati:

- Strato basale è formato da cellule cilindriche con grande nucleo e numerose mitosi;
- Strato intermedio è costituito da diversi piani di cellule fusiformi il cui citoplasma contiene glicogeno;
- Strato superficiale è formato da cellule appiattite con nuclei di picnosi.

L'epitelio si rinnova grazie ad un processo dinamico che inizia con la proliferazione delle cellule dallo strato basale e termina con il distacco di quelle più superficiali.

La lamina propria, su cui poggia l'epitelio, si solleva in papille. È formata da tessuto connettivo denso, ricco di fibre elastiche, che diminuiscono andando in profondità, e di collagene. Sono presenti vasi, soprattutto venosi e accumuli di linfociti. Non sono presenti ghiandole.

La tonaca muscolare ha uno spessore ridotto. È costituita da fasci di fibrocellule muscolari lisce, a decorso prevalentemente spirale, separate da tessuto connettivo ricco in fibre elastiche.

La tonaca avventizia, invece, connette la vagina alle formazioni adiacenti. Ad alto contenuto di elastina, rappresenta l'estensione della fascia endopelvica. In essa sono contenuti ricchi plessi venosi.

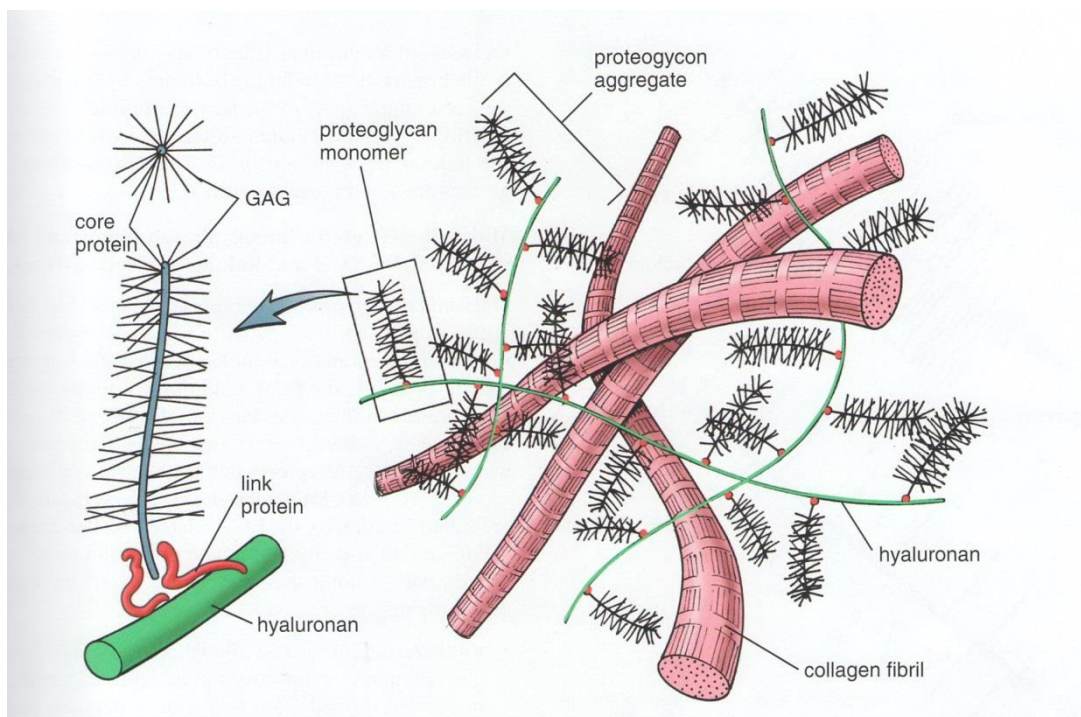


Fig.15 - Rappresentazione della struttura tridimensionale della matrice extracellulare formata da una componente amorfa e da una componente fibrosa.

Di essenziale importanza è la sostanza fondamentale o amorfa del tessuto connettivo. Essa è costituita da proteoglicani: macromolecole che sono in grado di intrappolare grandi quantità di acqua e quindi capaci di mantenere elevati livelli di idratazione della lamina propria. Questo permette il mantenimento del turgore della mucosa e implica un'elevata permeabilità in grado di favorire il metabolismo della mucosa per il trasporto di nutrienti e metaboliti dai capillari ai tessuti e per il

drenaggio delle sostanze di rifiuto dai tessuti ai capillari sanguigni e linfatici.

Nel tessuto connettivo la popolazione cellulare più diffusa è rappresentata dai fibroblasti. Queste cellule sono in grado di produrre ed elaborare: fibre collagene, fibre elastiche e reticolari, acido ialuronico, proteoglicani e glicoproteine. Dopo aver elaborato le componenti della matrice extracellulare, i fibroblasti si trasformano in fibrociti. Quest'ultimi, circondati dalle fibre collagene, rappresentano gli elementi quiescenti. Se si verifica un danno o una lesione tissutale i fibrociti ritornano al loro stato "attivo" di fibroblasti e iniziano a sintetizzare nuovo collagene.

Sono presenti analogie e differenze che accomunano e distinguono la cute dalla mucosa vaginale. Una differenza importante riguarda la struttura dell'epitelio. Nella cute lo strato più esterno è quello corneo, costituito da più strati di cellule appiattite morte; lo spessore varia in base alla sede anatomica; è povero di acqua e ricco di cheratina. L'epitelio della mucosa vaginale invece è ricco di acqua e non è cheratinizzato.

La principale differenza è, quindi, il diverso grado di idratazione. Questa caratteristica è fondamentale in quanto il laser a CO₂ ha una particolare affinità per l'acqua. A causa di questa diversità l'effetto dell'assorbimento del laser da parte della cute o della mucosa vaginale non sarà lo stesso. Per questo è nato il sistema SmartXide² V²LR dedicato al trattamento MonnaLisa Touch. Esso sfrutta l'impulso D-Pulse che è composto da due parti:

- La prima parte dell'impulso ha un picco di energia e potenza elevata per creare una rapida ablazione superficiale della componente epiteliale della mucosa vaginale atrofica caratterizzata da un basso contenuto di acqua;

- La seconda parte dell'impulso ha un picco di minore potenza con un tempo di emissione maggiore. Questo permette una diffusione termica in profondità dell'energia laser ottenendo così la stimolazione e la sintesi di nuovo collagene e dei composti della sostanza amorfa della matrice.

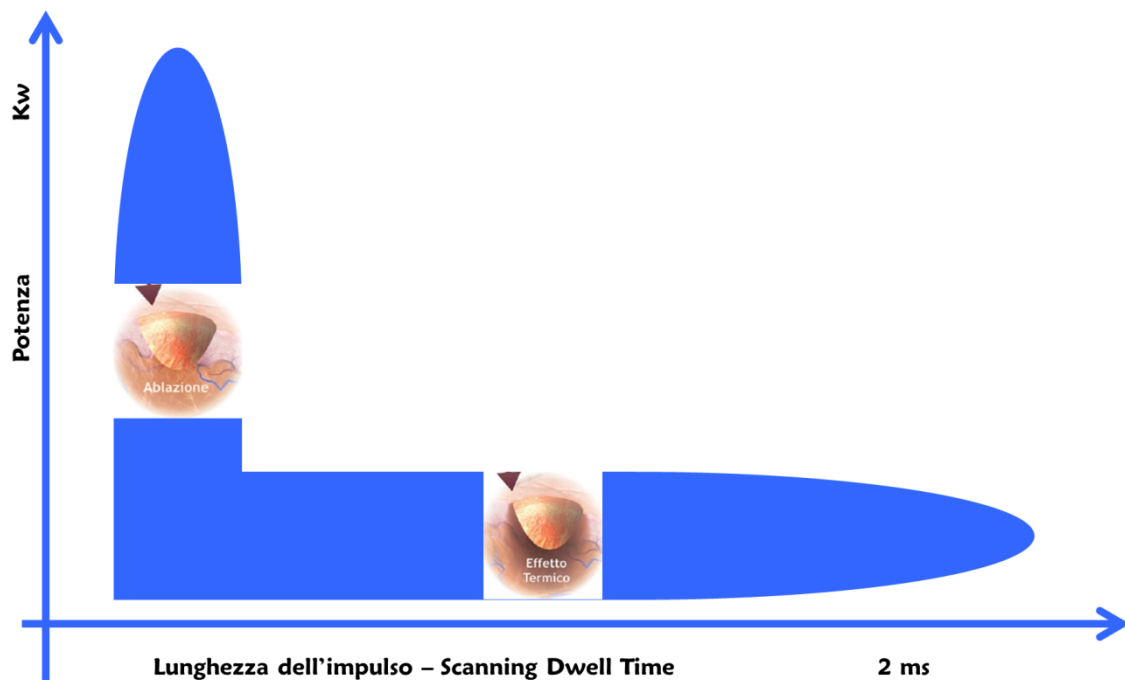


Fig.16 – SmartPulse: ablazione e denaturazione termica. (Per gentile concessione del Dott. Maurizio Filippini)

3.4 EFFETTI DEL LASER A CO₂ SULLA MUCOSA VAGINALE

È stato condotto uno studio⁽³⁵⁾ per valutare l'effetto e l'efficacia del laser a CO₂ frazionato sulla mucosa vaginale. Dopo aver sottoposto al trattamento donne in post-menopausa e dopo aver effettuato l'escissione chirurgica, i campioni di mucosa sono stati trattati e osservati al microscopio ottico. L'attenta analisi della matrice connettivale della mucosa ha dimostrato delle modificazioni

morfologiche notevoli delle fibre collagene, dovute probabilmente al diverso grado di temperatura presente nelle singole aree coinvolte.

All'osservazione con microscopio ottico si individuano diverse aree della mucosa: un cratere di vaporizzazione, una zona di carbonizzazione, una fascia di condensazione e una zona di ipertermia.

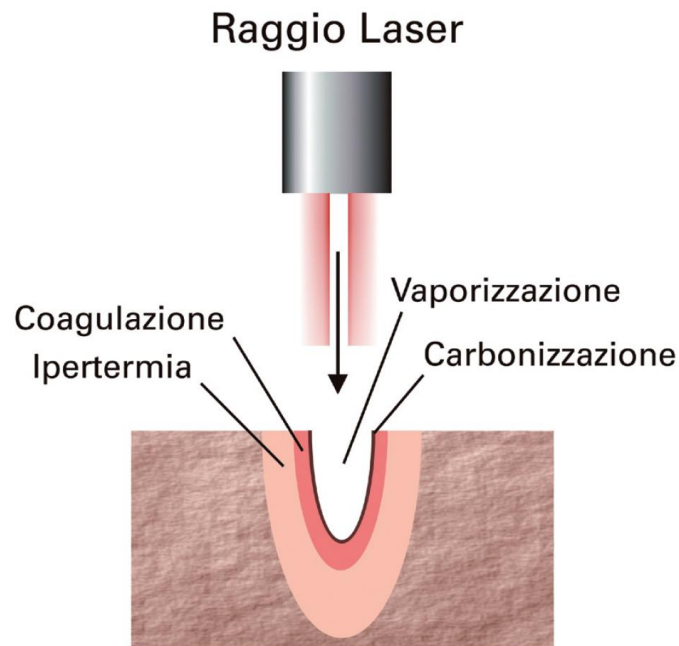


Fig.17 – Effetto termico del laser sul tessuto biologico.

- Il cratere di vaporizzazione e la zona di carbonizzazione sono dovute all'interazione tra l'emissione pulsata del raggio laser e la mucosa vaginale. Nelle strutture più superficiali, ad elevato contenuto di acqua, il brusco aumento di temperatura crea una vaporizzazione e un sottile strato di carbonizzazione.
- Il connettivo sotto al cratere, che costituisce la fascia di condensazione, subisce una perdita di acqua. È stato visto che l'effetto del gradiente termico sulle fibre collagene è diverso: a 65°C si ha una contrazione delle fibre collagene, mentre tra 50°-

65°C si ha la denaturazione. Il collagene denaturato crea una barriera termica nei confronti della mucosa sottostante.

- Zona di ipertermia in cui si rileva un aumento di temperatura.

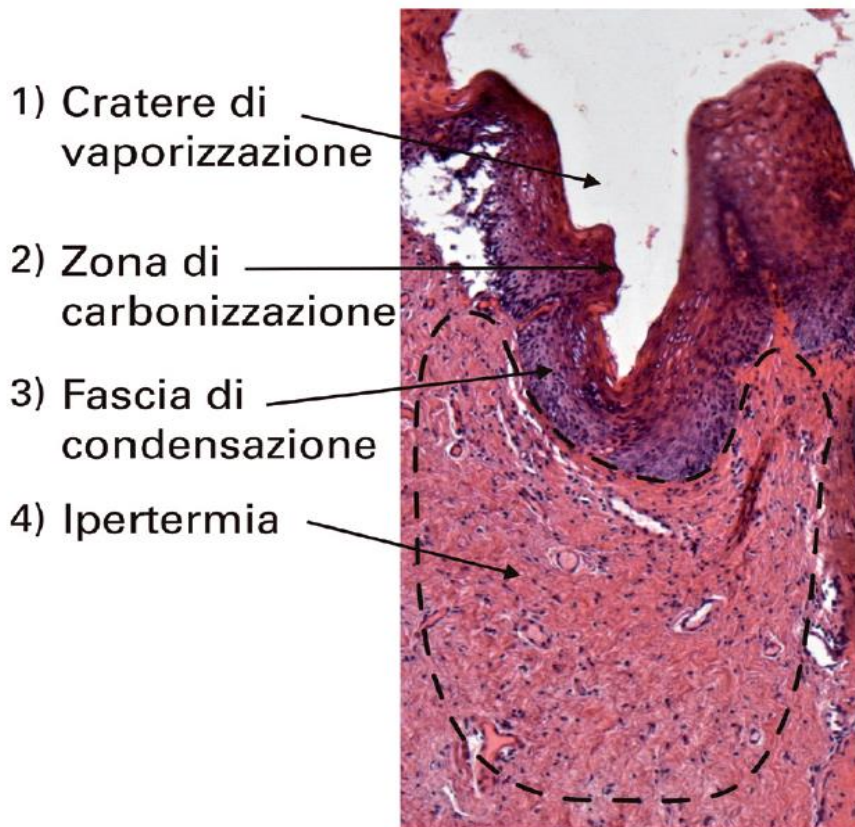


Fig.18 - Preparazione istologica della mucosa vaginale colorata con ematossilina e eosina (H&E). Si evidenziano quattro distinte aree a seguito del trattamento con laser a CO₂ frazionato SmartXide²V²LR.

È fondamentale notare come attorno ai 45°C si ha l'attivazione delle Heat Shock Proteins (HSP), che può avvenire solo a cellule integre e pienamente funzionali. Uno studio⁽³⁶⁾ ha dimostrato come si modifica nel tempo l'espressione di due Heat Shock Proteins: la HSP 47 e HSP 72. È emerso che la HSP 72 aumenta a 48 ore dal trattamento e raggiunge un picco massimo a circa 2-7 giorni per poi diminuire tre mesi dopo il trattamento; mentre la HSP 47 compare 7 giorni dopo il trattamento e rimane a livelli elevati e costanti a tre mesi dal trattamento. Questo a sostegno del fatto che la HSP 47 è in grado di

promuovere nei fibroblasti la sintesi di nuovo collagene e quindi determinare un rimodellamento dermico a lungo termine.

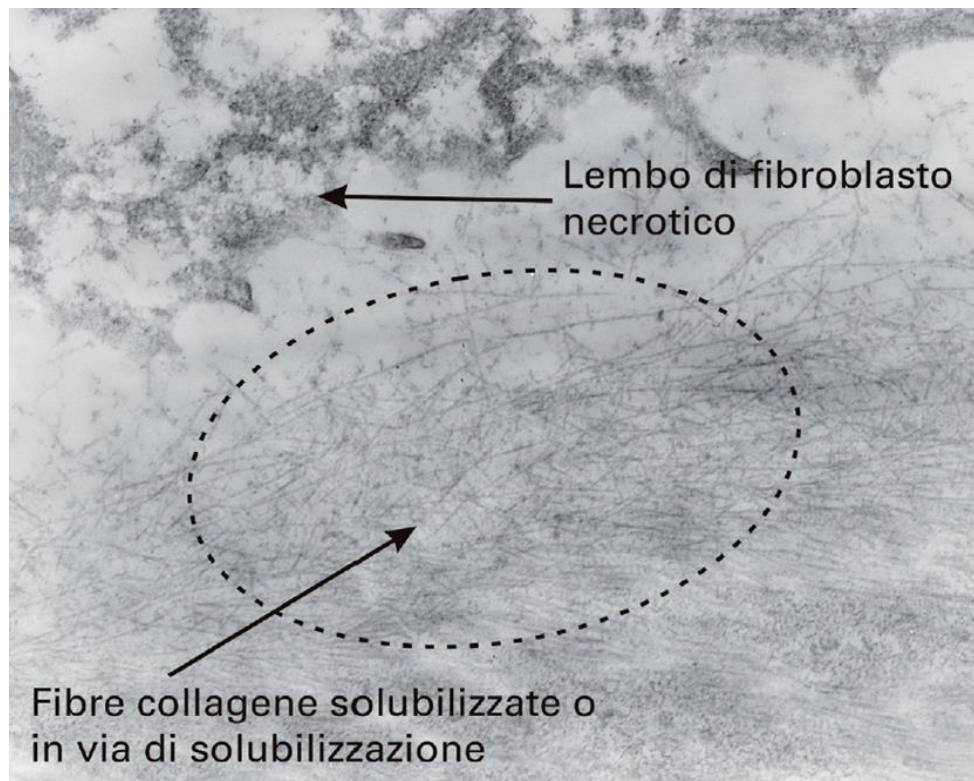


Fig.19 - Immagine al microscopio elettronico di una porzione di tessuto corrispondente alla fascia di denaturazione del collagene. Nella parte alta si osserva un lembo di fibroblasto necrotico. Nella parte centrale si evidenziano numerose strutture filamentose senza alcuna struttura organizzata: sono il risultato di fibre collagene solubilizzate o in via di solubilizzazione (vista longitudinale).

I fibroblasti hanno due ruoli fondamentali:

- Formare le fibre collagene
- Posizionare e strutturare il collagene in maniera corretta all'interno della componente amorfa.

Nella donna in menopausa la mucosa vaginale è costituita da fibrociti, cioè fibroblasti allo stato quiescente, quindi incapaci di produrre fibre collagene e di sintetizzare acido ialuronico e altre molecole che costituiscono la componente amorfa glicoproteica. La mucosa risulta

essere secca, meno nutrita, meno imbibita e quindi anche più fragile e soggetta a infezioni. I nutrienti e le difese immunitarie incontrano maggior difficoltà a raggiungere l'epitelio a causa della diminuita quantità di acqua nel connettivo. Questo determina uno squilibrio nella composizione della matrice extra-cellulare che causa atrofia della mucosa e deperimento dell'epitelio vaginale che non riceve più nutrimento.

L'effetto prodotto dal trattamento MonnaLisa Touch permette di ripristinare la giusta composizione della matrice extra-cellulare e di ristabilire la corretta permeabilità del connettivo consentendo il passaggio delle diverse sostanze nutritive dai capillari ai tessuti conferendogli il corretto trofismo.

La secchezza vaginale, essendo anch'essa correlata al ridotto trofismo dovuto alla vascolarizzazione limitata e alla minore idratazione causata dalla scarsa attività fibroblastica che determina una matrice amorfa meno imbibita, viene migliorata attraverso la giusta composizione della sostanza fondamentale prodotta dai fibroblasti che vengono attivati grazie al trattamento. L'acqua portata dai capillari può essere così mantenuta in sede migliorando l'idratazione dei tessuti e quindi riducendo anche i sintomi del prurito e del bruciore vaginale.

Un altro problema legato all'atrofia vaginale è la diminuita lubrificazione per la ridotta secrezione di fluido vaginale; questo aspetto è associato al disturbo della dispareunia. La lubrificazione vaginale è mediata da complessi fenomeni neuro-vascolari e biochimici, solo in parte compresi⁽³⁷⁾. Essa è determinata dalla presenza di un fluido dato dalla commistione delle secrezioni provenienti dalle diverse strutture dell'apparato genitale. La componente maggiore è data dal trasudato vaginale che si crea per il lento deflusso del sangue attraverso i capillari che irrorano l'epitelio vaginale⁽³⁸⁾. Questo permette il passaggio di un filtrato plasmatico dal letto vascolare, attraverso l'epitelio, alla cavità

vaginale. Durante l'eccitazione sessuale, il flusso ematico all'epitelio vaginale aumenta rapidamente come conseguenza dell'innervazione parasimpatica del nervo pelvico⁽³⁹⁾. Questo determina l'incremento di trasudato presente tra le cellule dell'epitelio vaginale che satura la capacità di riassorbimento, riversandosi quindi nel lume vaginale. Il trattamento MonnaLisa Touch, migliorando il trofismo del tessuto, facilita e permette un corretto apporto vascolare indispensabile per mantenere una buona lubrificazione vaginale e quindi riduce il problema della dispareunia.

Infine l'effetto del trattamento con MonnaLisa Touch porta un beneficio anche dal punto di vista del ripristino dell'acidità vaginale. Durante la fase follicolare del ciclo ovarico, nelle donne in età fertile, le cellule dell'epitelio vaginale sintetizzano e accumulano glicogeno man mano che migrano verso la superficie dove si staccano per desquamazione. Il tasso di desquamazione aumenta nella seconda parte del ciclo e il glicogeno liberato dalle cellule desquamate viene utilizzato dai lattobacilli vaginali che producono acido lattico che acidifica l'ambiente vaginale, inibendo la colonizzazione da parte di micro-organismi patogeni. Con l'avvento della menopausa l'epitelio e la sottostante lamina propria connettivale vanno incontro ad atrofia, il glicogeno nelle cellule epiteliali diminuisce e di conseguenza diminuiscono anche i lattobacilli che vivono di glicogeno e sono responsabili del mantenimento del pH acido. Migliorando il trofismo della mucosa vaginale si aumenta, quindi, anche il glicogeno cellulare con successiva ricolonizzazione dei lattobacilli vaginali e ripristino dell'ambiente acido vaginale⁽⁴⁰⁾.

Uno studio effettuato su 50 donne in post-menopausa trattate con laser CO₂ ha valutato l'efficacia del trattamento a 12 settimane. I risultati hanno mostrato un significativo miglioramento dei sintomi e della salute vaginale correlati all'atrofia vulvo-vaginale delle donne in post-menopausa. L'84% delle donne è rimasta soddisfatta^{(35), (41)}.

SCOPO DELLO STUDIO

4. SCOPO DELLO STUDIO

Lo scopo dello studio è stato quello di valutare l'efficacia e la sicurezza della terapia fisica con trattamento Laser CO₂ MonnaLisa Touch in un campione di donne in transizione menopausale e postmenopausa con sintomatologia da distrofia-atrofia urogenitale (secchezza, bruciore, dispareunia, prurito, calore e dolore).

MATERIALI E METODI

5. MATERIALI E METODI

Sono state studiate n°196 pazienti di età compresa tra 35 e 70 anni in fase di transizione menopausale e post-menopausa, seguite presso gli Ambulatori di Ginecologia e Ostetricia dell'Ospedale di Stato della Repubblica di San Marino. Di queste, n°196 pazienti hanno ricevuto un solo trattamento laser vaginale, n°45 pazienti due trattamenti e n°6 pazienti hanno effettuato il terzo trattamento laser. Per un totale complessivo di n°247 trattamenti.

PROTOCOLLO

Per ogni soggetto valutato sono stati effettuati i seguenti step:

1. Primo incontro:

È stata eseguita la raccolta dei dati personali della paziente (nome, cognome, data di nascita, età della menopausa, presenza di eventuali patologie e relative terapie).

Visita ginecologica ambulatoriale con diagnosi clinica di distrofia urogenitale e successiva indicazione per il trattamento con Laser CO₂ MonnaLisa Touch.

Prima di procedere con il trattamento è stata data indicazione di effettuare il tampone vaginale (almeno due settimane prima del trattamento per poter effettuare, in caso di positività, la terapia antibiotica) e di eseguire il PAP-Test (solo a quelle pazienti che non l'avevano eseguito da più di tre anni). Inoltre sono state fornite informazioni finalizzate alla raccolta del consenso informato.

NOTA INFORMATIVA TRATTAMENTO MONNALISA TOUCH

COSA E' L'ATROFIA VAGINALE

L'**atrofia uro-genitale** insorge a seguito del declino della produzione di estrogeni da parte delle ovaie, dovuto alla menopausa, o in conseguenza di terapie seguite per alcuni tumori ginecologici.

Questa nuova condizione comporta un **progressivo assottigliamento dei tessuti epiteliali genitali**, della mucosa **vaginale e vulvare**, che perde spessore e si dimostra più delicata, irritabile ed esposta a traumi. La perdita di glicogeno nelle cellule (che contribuisce all'equilibrio della flora vaginale) insieme alla ridotta irrorazione e afflusso sanguigno all'epitelio, sono fattori che assommano alle alterazioni morfologiche dei tessuti alcune modifiche fisiologiche e funzionali come:

- **secchezza e scarsa idratazione**
- **ridotta secrezione del fluido vaginale**
- **aumento del pH vaginale oltre 5.0**
- **diminuzione dei lattobacilli vaginali e aumento della flora antagonista patogena**
- **infiammazione e sensazione di bruciore**
- **prurito e senso locale di vasodilatazione**
- **leucorrea o perdite vaginali atipiche**
- **suscettibilità allo sfregamento e alle sollecitazioni meccaniche da parte delle pareti vaginali**
- **livellamento delle picche rugose vaginali** (dovuto alla riduzione di collagene nelle cellule)

La sintomatologia correlata all'**atrofia della mucosa vaginale** e del basso tratto urinario durante il rapporto sessuale può alterare le sensazioni genitali o peggiorare sintomi preesistenti come la **riduzione del desiderio** e il **deficit orgasmico**.

COME FUNZIONA IL TRATTAMENTO MONNALISA TOUCH

Tra le tecniche più avanzate di **fotoringiovanimento vaginale (RESHAPING)**, **MonnaLisa Touch** allevia i sintomi più fastidiosi associati all'atrofia vaginale: scarsa lubrificazione vaginale, prurito vulvare, secchezza, senso di pesantezza, persino dolore durante il rapporto sessuale possono diventare un ricordo del passato.

MonnaLisa Touch favorisce in modo sicuro e indolore il recupero dell'equilibrio della mucosa genitale con metodologie simili a quelle utilizzate per rallentare l'invecchiamento della sensibile pelle del viso.

Agendo con delicatezza sui tessuti della mucosa vaginale, il **laser stimola la produzione di collagene**, migliora la funzionalità dell'area trattata e ne ristabilisce la corretta irrorazione. Naturale, sicura e mini-invasiva, **MonnaLisa Touch** ridona tono ai tessuti, aumenta il flusso sanguigno e la lubrificazione: in una parola riporta alla normalità, con naturalezza, lo stato fisiologico delle **pareti vaginali**.

QUALI SONO I VANTAGGI DI QUESTO TRATTAMENTO?

Con **MonnaLisa Touch** si effettua un vero e proprio **ripristino funzionale della vagina (Laser Vaginal Rejuvenation)** che aiuta a contrastare e ad attenuare i fastidi legati all'Atrofia Vaginale, una problematica molto diffusa nelle donne in pre e post menopausa.

Agendo su alcuni fattori che determinano secchezza, fragilità e perdita di elasticità della mucosa, si possono eliminare quelle sensazioni fastidiose di prurito, irritazione e dolore, più acute particolarmente durante l'attività sessuale.

L'interazione con il laser è infatti la modalità ideale per la stimolazione del collagene contenuto nella pareti vaginali, per la reidratazione e per il recupero funzionale dei tessuti, la sua azione benefica può contribuire anche a migliorare nelle donne la fiducia in se stesse e il piacere sessuale.

PER QUALI DONNE E' PIU' INDICATO IL TRATTAMENTO LASER MONNALISA TOUCH?

Per qualsiasi donna con problemi correlati all'atrofia vaginale che è legata ai fisiologici sbalzi ormonali inevitabili

segue

MODUL-SS-OST-93

con lo scorrere del tempo. In particolare **MonnaLisa Touch** è il trattamento ideale per chi è alla ricerca di una procedura meno invasiva rispetto alle tradizionali tecniche chirurgiche o farmacologiche.

PER QUALI DONNE NON E' INDICATO IL TRATTAMENTO LASER MONNALISA TOUCH?

Non ci sono criteri di esclusione assoluti per il MonnaLisa Touch se non quelli collegati a patologie gravi sia locali che sistemiche, in linea di massima tutte le donne in età menopausica ne possono beneficiare ma sarà il Vostro medico di fiducia a determinare la Vostra compatibilità con tale trattamento.

L'unica vera controindicazione del trattamento **MonnaLisa Touch** è la **presenza di infezioni vaginali in atto**, per tale motivo alla paziente viene richiesto preventivamente un tampone vaginale. **Il trattamento è privo di effetti collaterali.**

MODALITA' DI TRATTAMENTO

I primi benefici possono essere apprezzabili anche solo dopo la prima seduta, con un miglioramento complessivo dei disturbi nel 65 per cento dei casi.

Si tratta di un **laser a Co2 con raggio pulsato**, che emette impulsi delicati (potenza massima 40 Watt), frazionati tra loro da un intervallo di 1000 microsecondi, in modo da svolgere un'azione molto delicata.

Gli spot laser esercitano un'immediata azione ristrutturante sulle pareti vaginali che vengono come rigenerate dall'interno.

La natura terapeutica (non estetica) di questo laser fa sì che viene riequilibrato il pH vaginale, con un miglioramento dell'irrorazione sanguigna, un maggior turgore e idratazione delle mucose e un ispessimento dell'epitelio vaginale.

Sul versante pratico, già dopo una seduta si assiste a una netta riduzione di bruciore, prurito e senso di secchezza delle parti intime.

Le sedute non sono dolorose, non richiedono anestesia, durano circa 15 minuti, e procurano una sensazione di calore, dovuta alla sonda-laser che penetra in vagina.

Per qualsiasi ulteriore chiarimento, o qualora volesse approfondire ancor più nel dettaglio alcuni aspetti tecnici inerenti il trattamento proposto, non esiti a contattare il Personale Medico del Reparto o il Ginecologo di fiducia, telefonando al numero: **0549 994506**.

La presente nota informativa è stata consegnata dal Dott. _____

il giorno _____ alle ore _____.

Firma della paziente

MonaLisa Touch™

Fig.20 – Consenso informato.

2. Secondo incontro:

Raccordo anamnestico e valutazione della sintomatologia soggettiva locale attraverso la compilazione della Scala Analogica Visiva (VAS) con valori da 0 a 10 per i seguenti sintomi:

- Secchezza vaginale
- Bruciore vulvo-vaginale
- Dispareunia
- Prurito
- Calore
- Dolore vulvare
- Incontinenza urinaria da sforzo

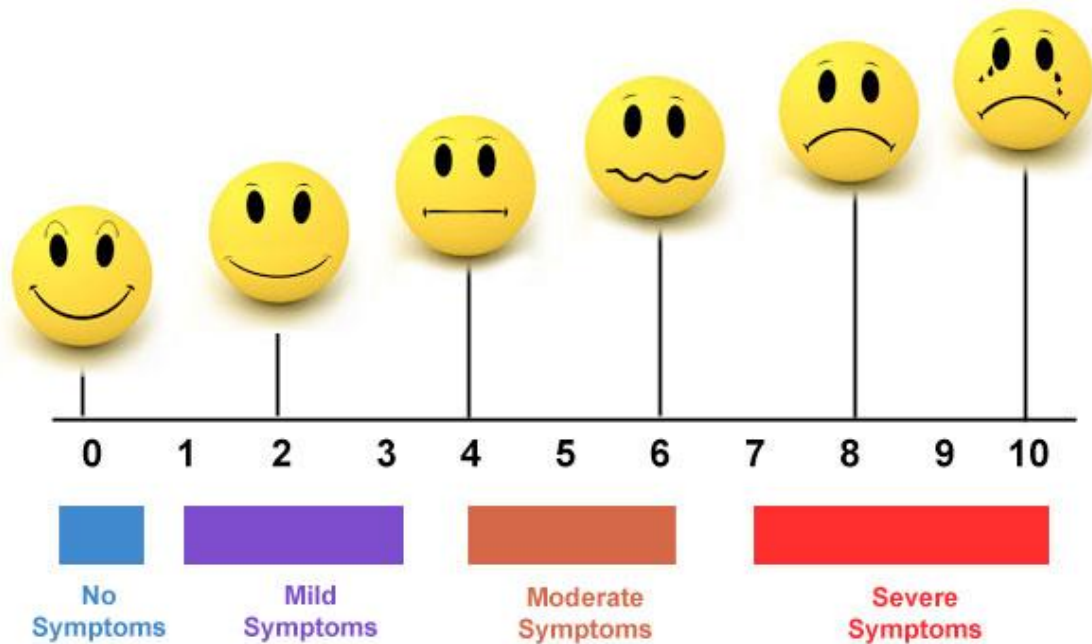


Fig.21 – Scala VAS

In tutti i casi, prima del trattamento, è stato valutato il pH vaginale.

Quindi è stata eseguita l'applicazione del Laser CO₂ scegliendo il manipolo a seconda della sintomatologia e della sede da trattare.

I manipoli disponibili sono:

- Manipolo a 90°, 120°, 360° per il trattamento dell'atrofia vaginale.

I due manipoli a 90° e 120° permettono di dirigere il fascio laser in maniera settoriale su una determinata zona di trattamento, mentre il manipolo a 360° consente, attraverso la presenza di 4 specchi piramidali, il contemporaneo trattamento di diversi settori vaginali.



Fig.22 - Manipolo 90° a specchio singolo.

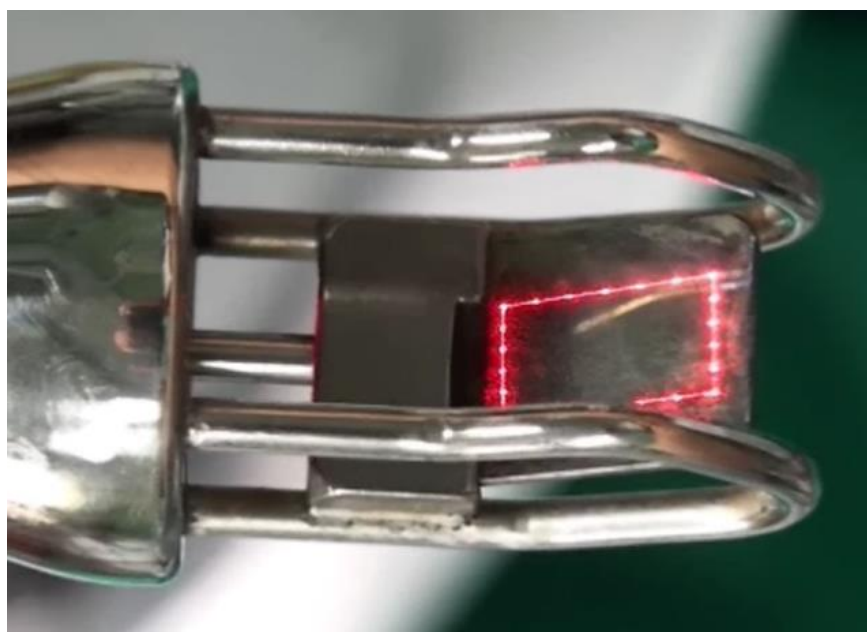


Fig.23 - Manipolo 120°



Fig.24 - Manipolo 360° con quattro specchi piramidali.



Fig.25 - Immagine della vagina immediatamente dopo il trattamento. (Per gentile concessione del Dott. Maurizio Filippini)

- Manipolo a 0° per il trattamento dell'atrofia vulvare.
Tale manipolo permette un'ottimale direzionamento del fascio laser a seconda dell'area vulvare da trattare.



Fig.26 - Manipolo a 0°



Fig.27 - Introito immediatamente dopo il trattamento.(Per gentile concessione del Dott. Maurizio Filippini).

- Manipolo a 90° e 120° per il trattamento dell'incontinenza urinaria da sforzo (IUS). Viene irradiata solo la zona vaginale anteriore in corrispondenza del terzo medio uretrale.



Fig.28 - Manipolo 90° a specchio singolo.

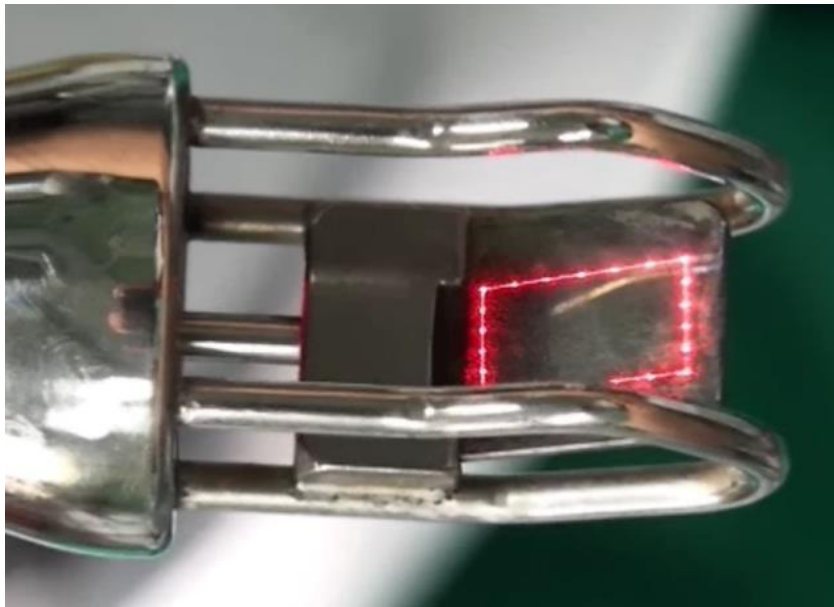


Fig.29 - Manipolo 120°.

Sono stati utilizzati i seguenti setting di trattamento che sono diversi a seconda della zona da trattare e regolabili anche in funzione della reazione sintomatologica avvertita dalla paziente durante l'applicazione del laser.

Il protocollo ha ricevuto l'approvazione della FDA americana (FDA Deka SmartXide² nel 2013) per quanto riguarda il trattamento vaginale dell'atrofia. Tale trattamento risulta assolutamente

indolore, anche per la mancanza di specifici recettori a livello dell'epitelio vaginale.

Con il passare del tempo l'esperienza ha dimostrato che l'esclusione dal trattamento dell'area vestibolare inficiava in senso peggiorativo l'esito finale dei risultati. La comprensione di questo necessario passaggio laser a livello vestibolo-vulvare ha obbligato gli operatori a trattare anche tali aree, a discapito di un'aumentata dolorabilità. Questo discomfort viene superato modulando da paziente a paziente sia la potenza che la persistenza di emissione del raggio laser.

- Per l'atrofia vaginale si utilizzano tali parametri:
 - potenza 40 Watt
 - tempo di scansione 1000 μ s
 - spaziatura 1000 μ m
 - Smart Stack 2



Fig.30 – Parametri per l'atrofia vaginale.

- Per l'atrofia vulvare si utilizzano tali parametri:
 - potenza 30 W
 - tempo di scansione 500 μ s
 - spaziatura 500 μ m
 - Smart Stack 1

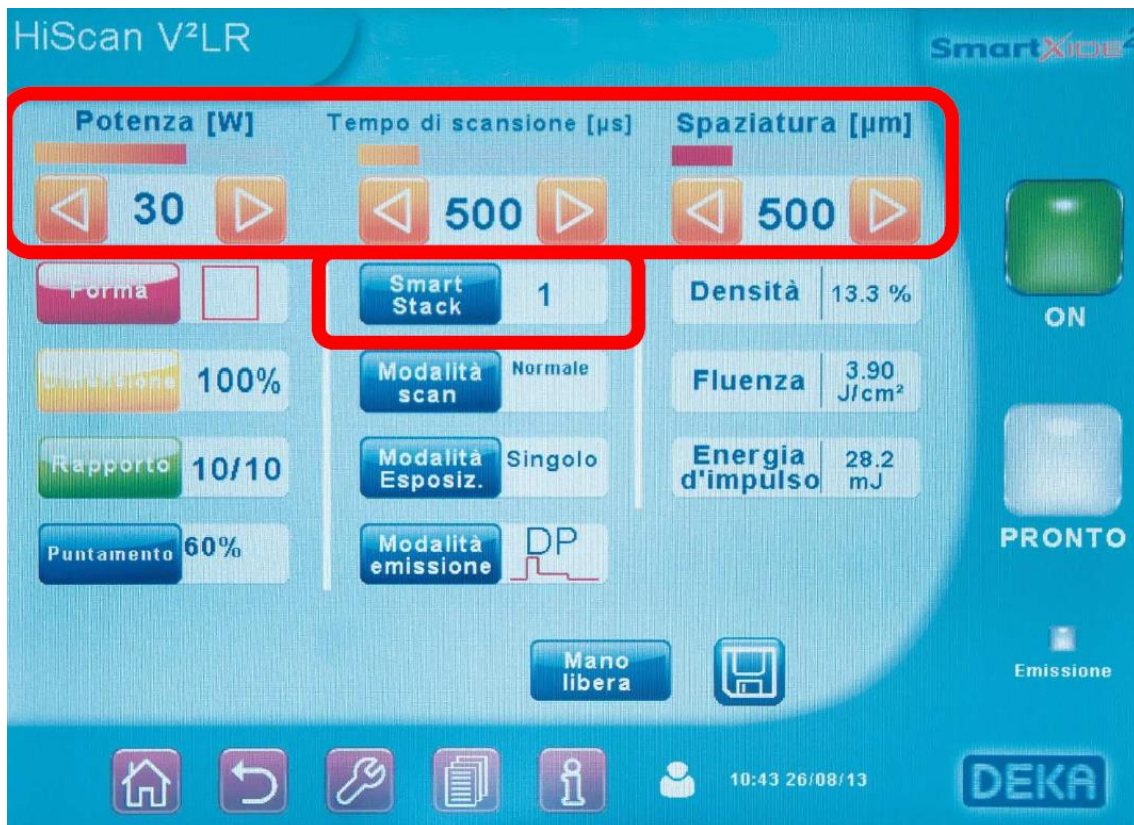


Fig.31 – Parametri per l'atrofia vulvare.

3. Terzo incontro:

Le pazienti sottoposte a trattamento hanno effettuato un follow-up a circa 8 settimane di distanza presso l'Ambulatorio di Ginecologia e Ostetricia dell'Ospedale di Stato di San Marino.

È stata effettuata la rivalutazione della sintomatologia procedendo nuovamente alla compilazione della Scala Analogica Visiva (VAS).

Inoltre è stato chiesto alle pazienti di esprimere un giudizio di soddisfazione complessivo riguardante il trattamento.

Sono state, infine, programmate una seconda applicazione e una terza applicazione, se indicate.

Nei protocolli proposti da altri autori⁽³⁵⁾ sono previste tre applicazioni a distanza di un mese e mezzo una dall'altra. Presso l'Ospedale di Stato di San Marino, vengono effettuate prestazioni sanitarie alle quali affluiscono tutte le pazienti del territorio, gratuitamente. Si è ritenuto opportuno pertanto di valutare durante il follow-up il numero di trattamenti necessari in funzione della risposta sintomatologica della singola paziente. Tutto ciò al fine di offrire un trattamento "personalizzato" senza sovraccaricare l'ambulatorio dedicato.

Dopo ogni trattamento, a partire dal giorno stesso dell'intervento, viene consigliato alle pazienti di applicare profondamente in vagina e sulla vulva un gel idratante (in caso di paziente oncologica si utilizza un prodotto che non contiene fitoestrogeni), per favorire l'idratazione e un corretto mantenimento del contenuto di collagene che è normalmente presente nel tessuto connettivo perineale.

Il trattamento consigliato è di una applicazione al giorno per almeno 15-20 giorni consecutivi. Ma si consiglia comunque la continuazione della terapia in vagina e sulla vulva, per mantenere idratata ed umettata la mucosa vaginale, al fine di non perdere i vantaggi conseguiti con il trattamento.

Dopo il trattamento la paziente ritorna tranquillamente al proprio domicilio, astenendosi dall'attività fisica e sessuale per almeno 5 giorni, così come i bagni in vasca, al mare, in piscina o termali.

I primi rapporti sessuali dopo il trattamento, da riprendere anch'essi dopo 5 giorni, potrebbero essere fastidiosi o leggermente dolorosi, ma di solito rimangono solo episodi temporanei che non devono destare preoccupazione.

Inoltre viene "caldamente" consigliata l'astensione dal fumo. In primis perché rappresenta un pericolo per la salute, ma anche perché il fumo

aumenta l'atrofia vaginale in quanto riduce l'afflusso di sangue all'area genitale e quindi influenza in senso negativo le cellule vaginali.

In occasione di ogni visita di follow-up alle pazienti è stato chiesto di compilare un questionario mirato a raccogliere il grado di soddisfazione relativo ai risultati ottenuti dopo il trattamento.

L'analisi descrittiva e la valutazione complessiva della casistica ai fini di questo elaborato sono state condotte in collaborazione con il Centro della Menopausa e dell'Osteoporosi dell'Università di Ferrara.

RISULTATI

Sono stati eseguiti n°247 trattamenti MonnaLisa Touch presso l'U.O. di Ginecologia e Ostetricia dell'Ospedale di Stato di San Marino nel periodo dal 23.01.2013 al 21.05.2014.

In n°168 casi è stato completato il follow-up a 8 settimane.

Sono stati eseguiti n°51 trattamenti vulvari, di cui 29 giunti a follow-up a 8 settimane; n°43 trattamenti per IUS lieve di cui n°23 sottoposte a follow-up a 8 settimane.

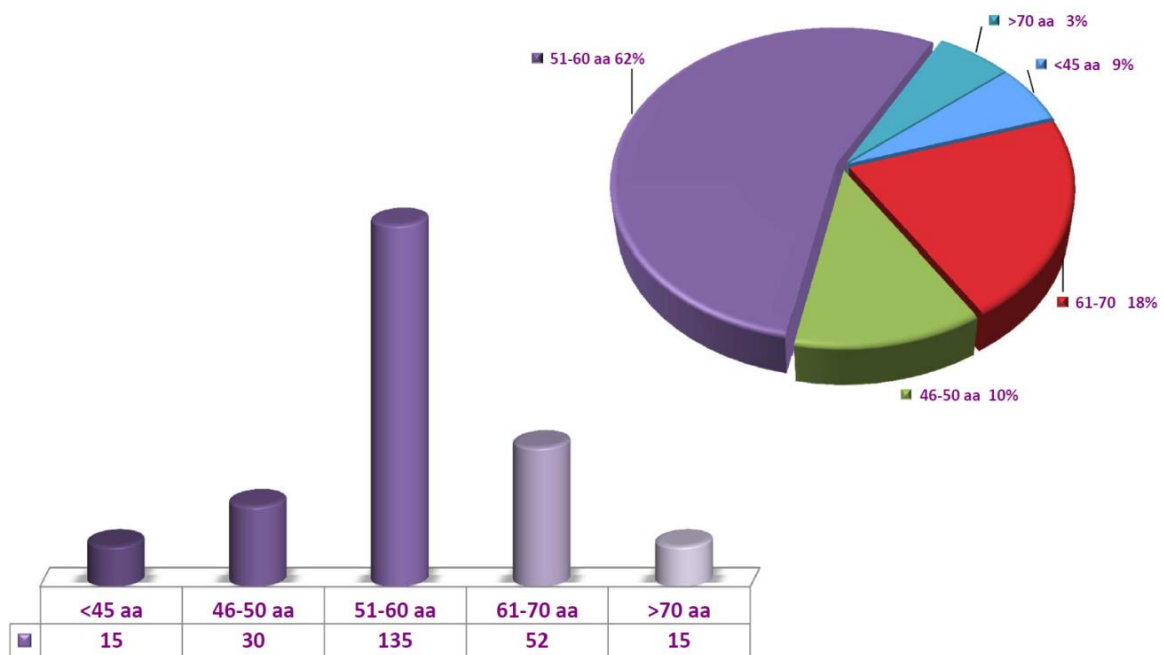


Fig.32 - Età delle pazienti al momento del trattamento su 247 trattamenti effettuati. (Per gentile concessione del Dott. Maurizio Filippini)

Nella grande maggioranza dei casi l'età delle pazienti al momento del trattamento ricade nella tipica fascia di insorgenza di questa problematica, cioè nel periodo che va dai 45 ai 60 anni. Sono state inoltre trattate anche pazienti al di sotto ed al di sopra di questa età della vita perché le problematiche legate all'atrofia-distrofia vulvo-vaginale possono manifestarsi sia in donne più giovani, trattate con chemio e radioterapia per patologia oncologica, che in donne più anziane.

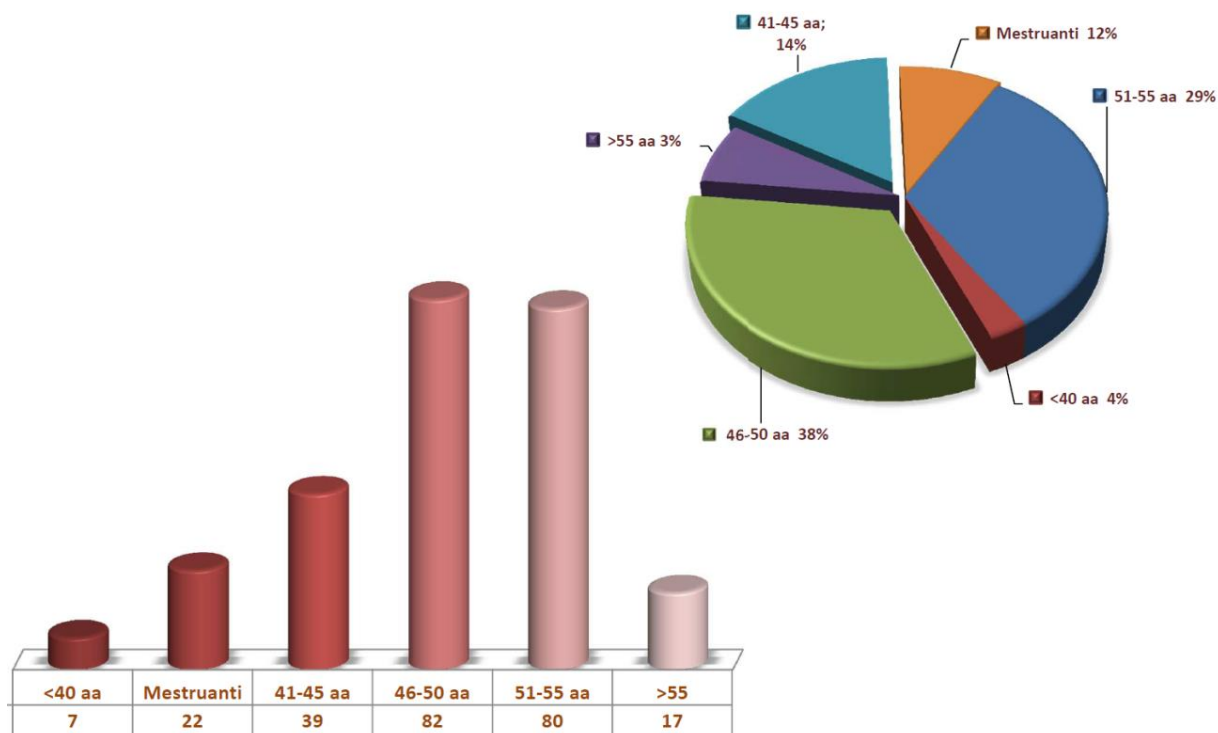


Fig.33 - Età di insorgenza della menopausa delle 247 pazienti trattate. (Per gentile concessione del Dott. Maurizio Filippini).

Nella stragrande maggioranza dei casi l'età di insorgenza della menopausa è stata quella attesa, e cioè tra i 45 ed i 55 anni di età. Sono state incluse nel trattamento anche pazienti mestruali con sintomi di distrofia vulvo-vaginale, a dimostrazione che tale problematica non colpisce necessariamente le donne con carenza estrogenica.

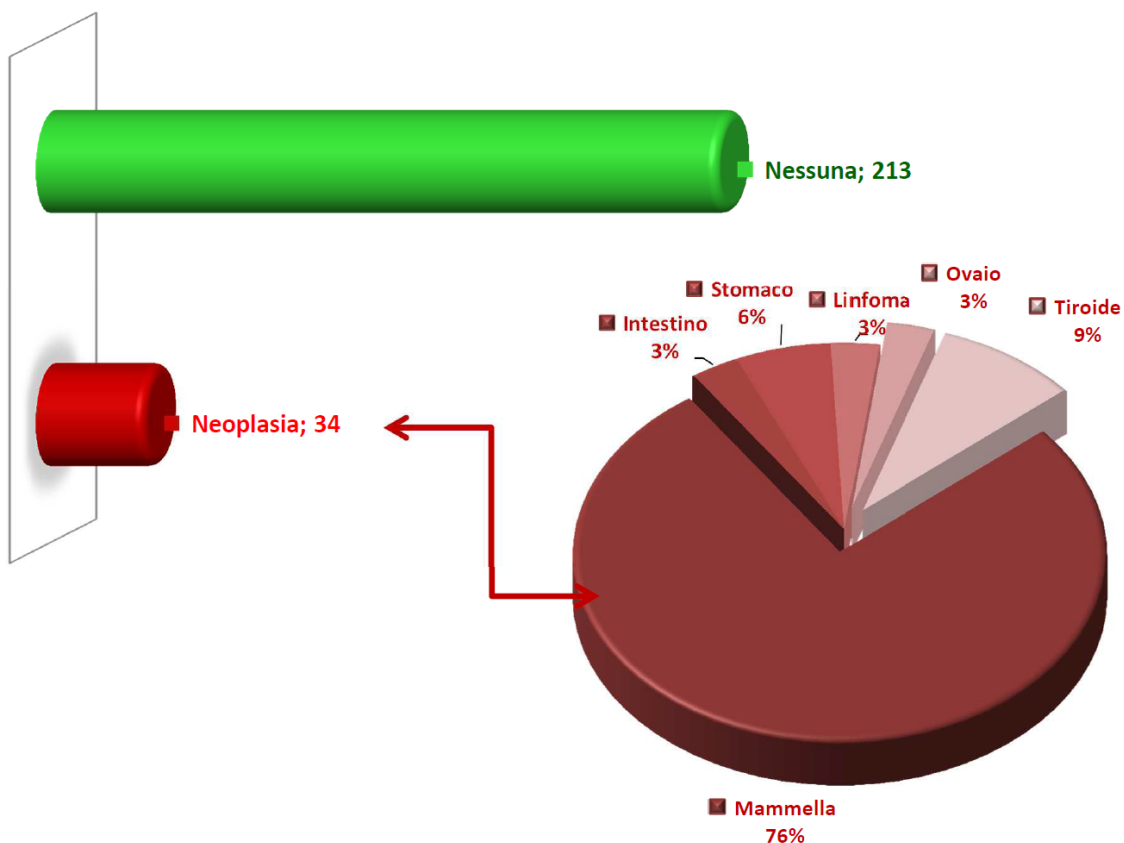


Fig.34 - Casi trattati con patologia oncologica su 247 trattamenti effettuati. (Per gentile concessione del Dott. Maurizio Filippini)

Il trattamento laser, non presentando controindicazioni né complicanze, può essere utilizzato anche verso quelle pazienti che difficilmente avrebbero trovato un miglioramento se impossibilitate ad utilizzare terapie ormonali, come nel caso delle neoplasie ormono-sensibili. Ed in effetti 34 delle pazienti trattate presentavano una pregressa patologia oncologica. In particolare 26 di esse aveva avuto un carcinoma mammario, 3 un carcinoma tiroideo, 2 un carcinoma gastrico, 1 caso di tumore ovarico, 1 caso di tumore intestinale ed 1 caso di linfoma.

Così come può essere applicato su donne che volontariamente decidono di non assumere terapia ormonale sostitutiva.

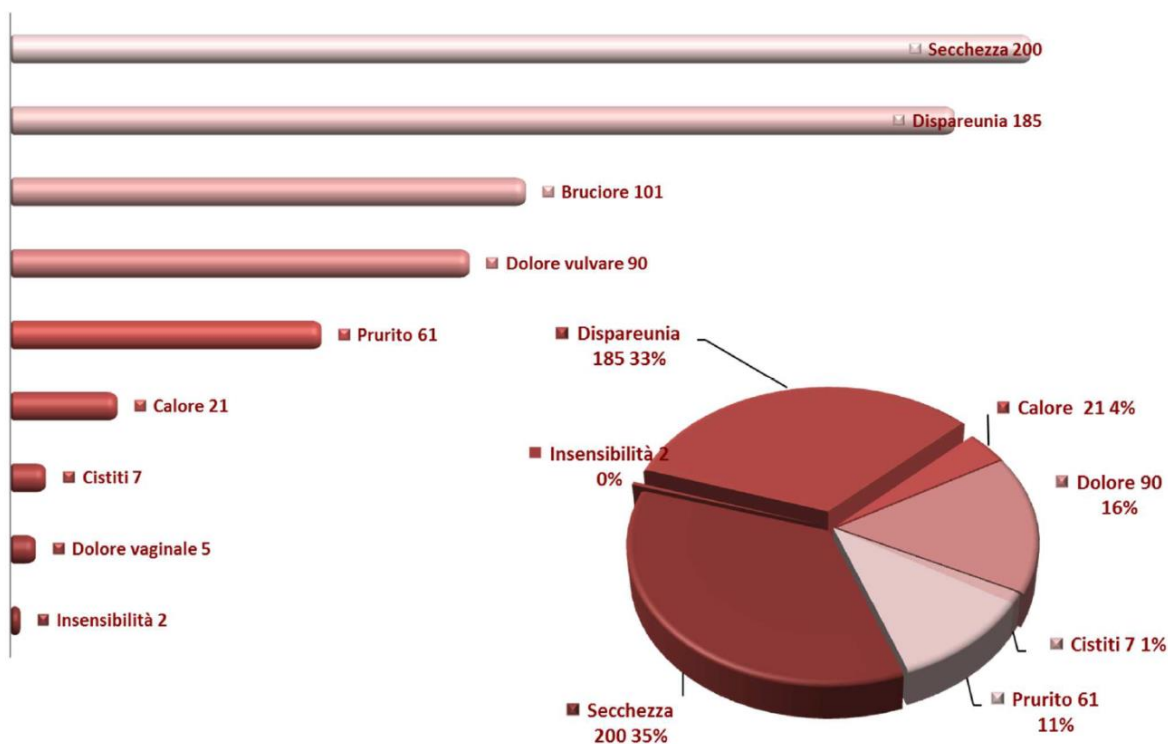


Fig.35 - Sintomi vaginali presenti prima del trattamento su 247 trattamenti effettuati. (Per gentile concessione del Dott. Maurizio Filippini)

Oltre i due terzi delle pazienti trattate hanno riferito una sintomatologia correlata all'atrofia vaginale, ed i sintomi maggiormente rappresentati sono stati la secchezza vaginale (35% delle pazienti trattate ha lamentato questo disturbo) e la dispareunia (33%). Spesso più sintomi erano presenti in associazione.

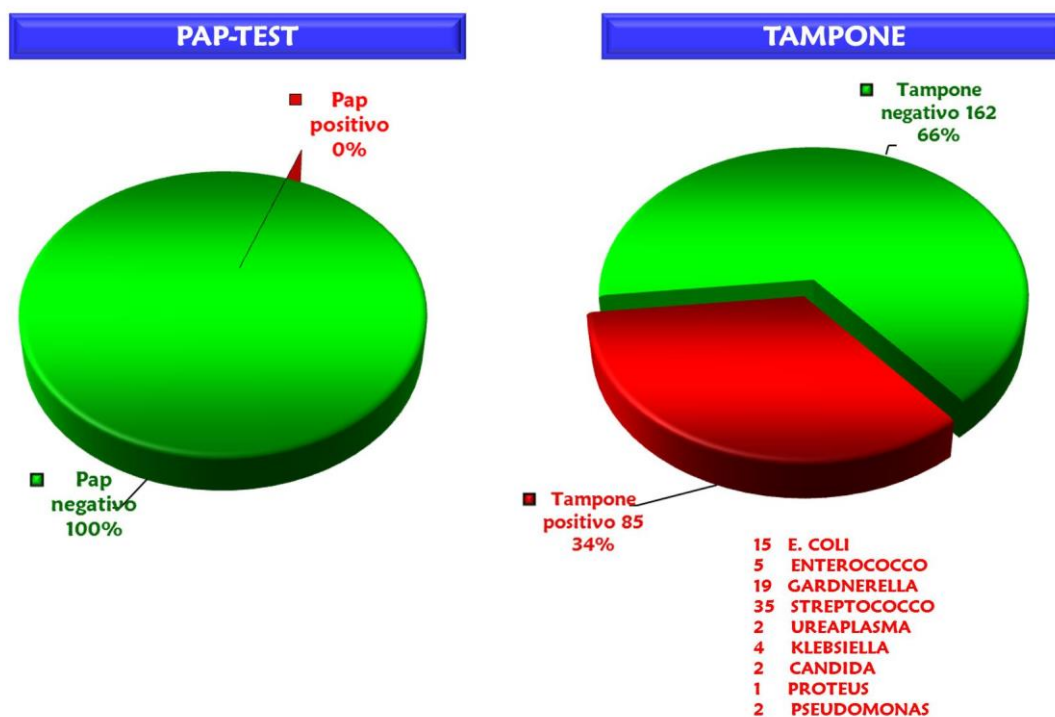


Fig.36 - Esito del Pap-test e del tampone vaginale prima dei 247 trattamenti effettuati. (Per gentile concessione del Dott. Maurizio Filippini)

Tutte le pazienti trattate avevano un esito del test citologico eseguito negli ultimi tre anni negativo.

Il tampone vaginale effettuato prima del trattamento è risultato negativo in 162 pazienti (il 66%) e positivo in 85 (34%).

In queste ultime, in cui il tampone è risultato positivo, sono stati riscontrati: 35 casi di Streptococco, 19 casi di Gardnerella, 15 casi di E.Coli, 5 casi di Enterococco, 4 casi di Klebsiella, 2 casi di Ureaplasma, 2 casi di Candida, 2 casi di Pseudomonas, 1 caso di Proteus. Tutte le pazienti positive sono state trattate con terapia antibiotica specifica prima di effettuare il trattamento Laser. Da notare come siano tutte vaginiti da flora anaerobia o vaginosi, come tipicamente si osserva in presenza di alterazioni vaginali da ipoestrogenismo.

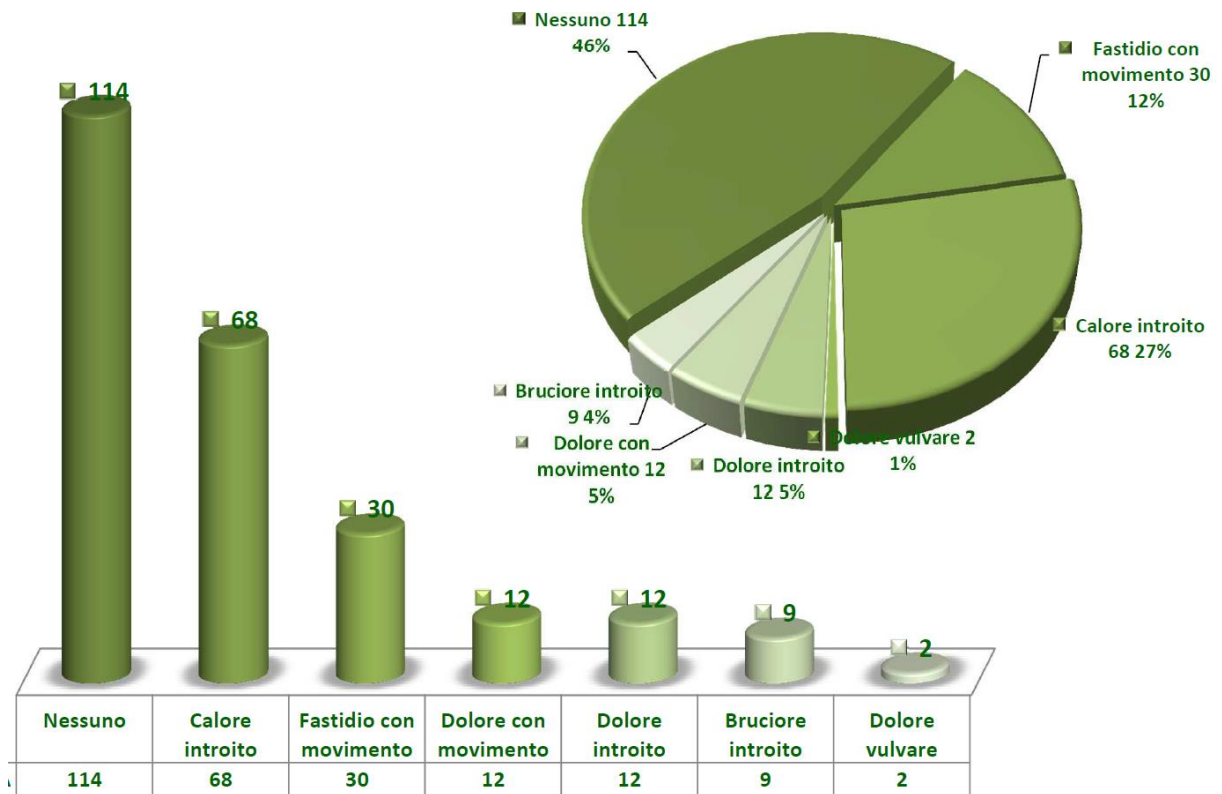


Fig.37 - Disturbi lamentati dalle pazienti durante il trattamento laser su 247 trattamenti effettuati. (Per gentile concessione del Dott. Maurizio Filippini)

Durante il trattamento laser 114 pazienti non hanno lamentato nessun disturbo.

Il sintomo maggiormente riscontrato nelle pazienti è stato il calore percepito a livello dell'introito vaginale (68 pazienti, 27% dei casi).

Durante il trattamento è possibile però modulare la potenza dell'impulso utilizzato e l'uso di diversi manipoli in modo da alleviare questo disturbo.

Circa il 12% delle donne (n° 30 pazienti) ha lamentato fastidio con il movimento del manipolo.

È possibile diminuire questo specifico sintomo utilizzando per il trattamento vaginale il manipolo a 360° in modo tale da ridurre al minimo la rotazione e il movimento. Anche la presenza della ghiera di

controllo della profondità e della graduazione del movimento riduce ulteriormente il discomfort.

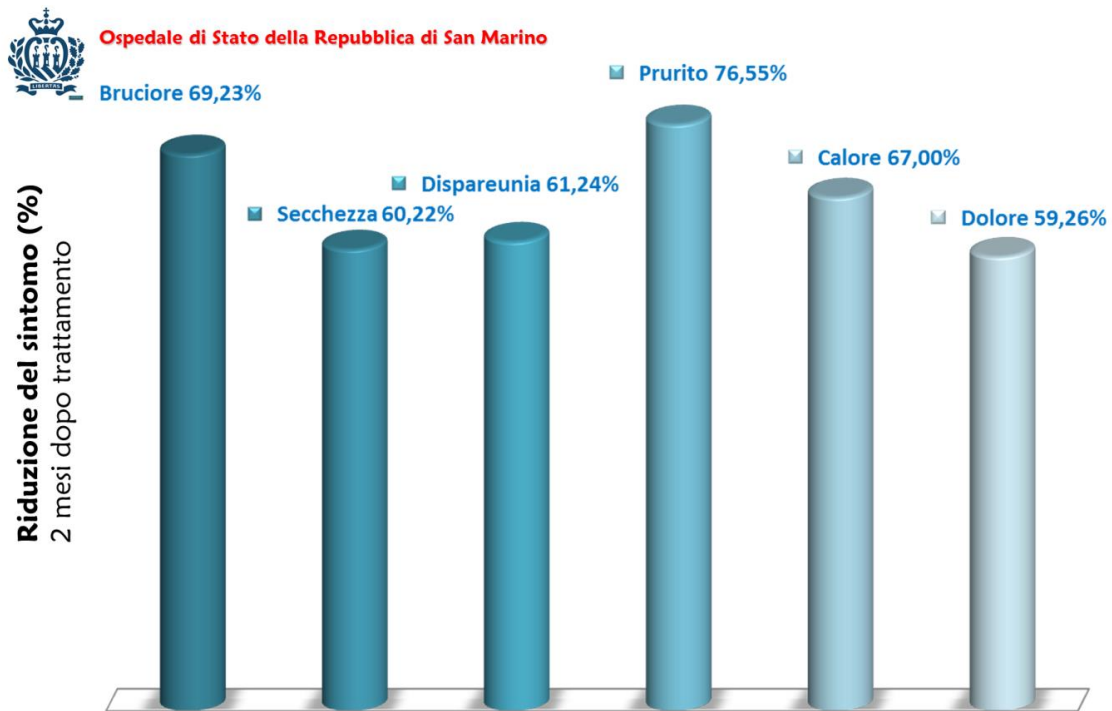


Fig.38 - Riduzione in percentuale di tutti i sintomi dopo 2 mesi dal trattamento. (Per gentile concessione del Dott. Maurizio Filippini)

In tutti i 247 trattamenti eseguiti, di cui 168 hanno effettuato il follow-up, si è notato un miglioramento di almeno il 50% per ogni singolo sintomo di atrofia vulvo-vaginale riferito.

In particolare: il prurito si è ridotto del 76,55%, il bruciore del 69,23%, il calore del 67%, la dispareunia del 61,24%, la secchezza del 60,22% e il dolore vulvare del 59,26%.

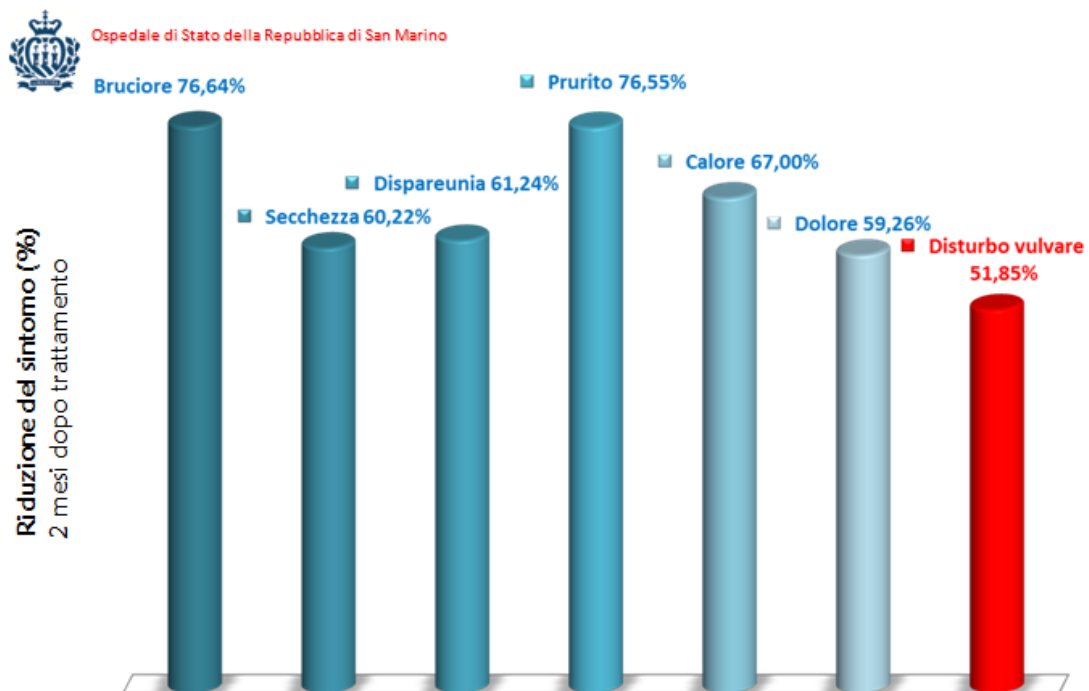


Fig.39 - Riduzione del disturbo vulvare. (Per gentile concessione del Dott. Maurizio Filippini)

Sono stati inoltre eseguiti anche n°51 trattamenti vulvari, di cui n°29 giunti a follow-up a 8 settimane.

Il disturbo vulvare nelle donne trattate si è ridotto del 51,85%.



Ospedale di Stato della Repubblica di San Marino

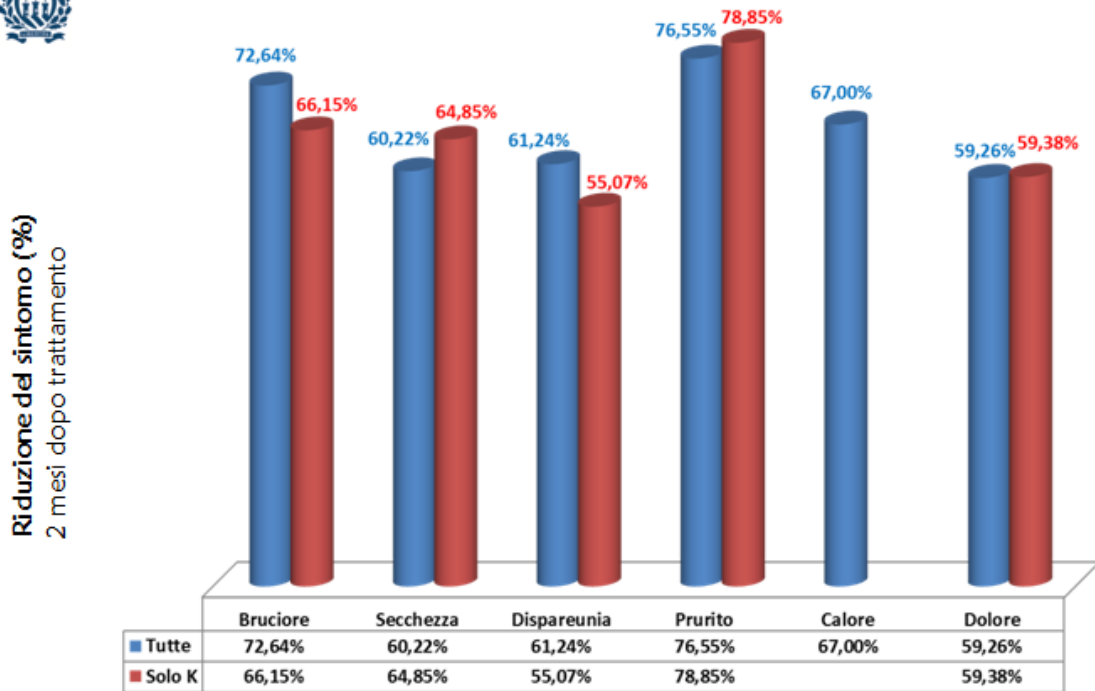


Fig.40 - Riduzione in percentuale dei sintomi vaginali nel campione totale (in blu) rispetto al campione con anamnesi per patologia neoplastica (in rosso). (Per gentile concessione del Dott. Maurizio Filippini)

È stata confrontata la percentuale totale di riduzione dei sintomi di tutte le donne trattate, con quelle affette da patologia neoplastica.

Dal confronto emerge che c'è un miglioramento dei sintomi dell'atrofia vulvo-vaginale anche nelle donne con neoplasia e che la percentuale di riduzione dei sintomi è, nel caso del bruciore (66,15%) e della dispareunia (55,07%), di poco inferiore rispetto alle altre pazienti. Mentre si eguaglia o è di poco superiore per i sintomi della secchezza, del prurito e del dolore vaginale.

Questo dato consolida ulteriormente la necessità di utilizzare di questo trattamento anche nelle pazienti affette da patologia neoplastica, senza nessuna preclusione circa i risultati ottenuti.

SODDISFAZIONI FINALI

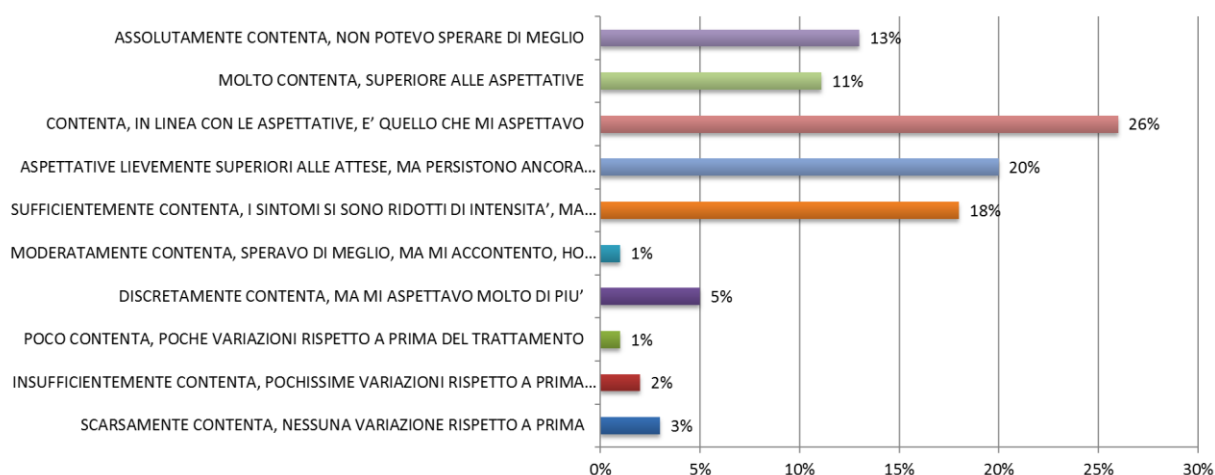


Fig..41 - Esito del questionario somministrato alle pazienti durante il follow up. (Per gentile concessione del Dott. Maurizio Filippini)

In fig.41 e successive sono rappresentati i risultati ottenuti dal questionario relativo al grado di soddisfazione ottenuto dal trattamento. Il 26% delle donne si sono dichiarate contente, in linea con le aspettative e con quello che si aspettavano dal trattamento.

Complessivamente il 24% delle donne sono rimaste assolutamente contente e/o molto contente con risultati post-trattamento che si sono rivelati superiori alle loro aspettative.

Solo il 12% delle donne che hanno eseguito il follow-up non è rimasta del tutto soddisfatta del trattamento o si aspettava di più.

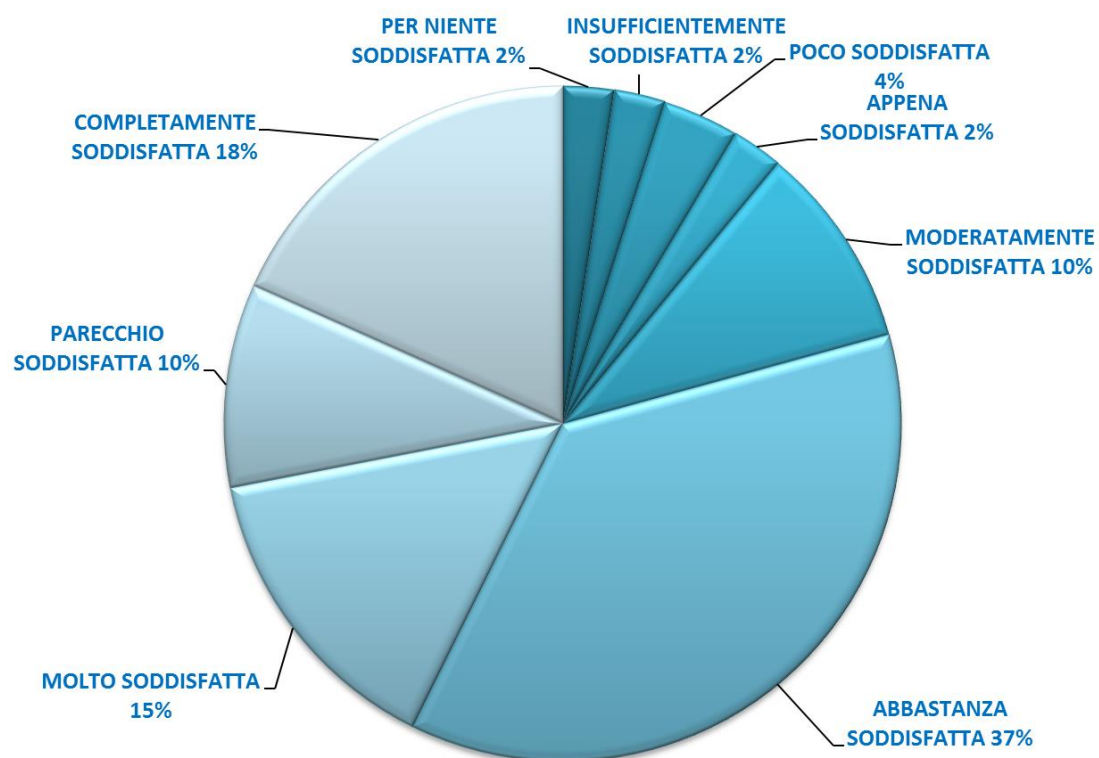


Fig.42 - Grado di soddisfazione circa l'esito del trattamento riferito dalle pazienti durante il follow up. (Per gentile concessione del Dott. Maurizio Filippini)

In oltre la metà dei soggetti trattati il grado di soddisfazione dopo il trattamento è stato medio-alto. Infatti, solo il 10% ha dichiarato di essere poco o per niente soddisfatta, il 37% abbastanza soddisfatta, in tutti gli altri casi (53%) il grado di soddisfazione andava da moderatamente soddisfatta a completamente soddisfatta.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I risultati ottenuti dal nostro studio sono molto promettenti e in linea con i pochi dati clinici presenti in letteratura sull'utilizzo di questa metodica⁽³⁵⁾.

In base ai risultati ottenuti si è notato quanto segue:

- In moltissimi casi si ottiene un importante miglioramento della sintomatologia legata alla distrofia-atrofia vulvo-vaginale.
- La sicurezza del trattamento è assolutamente un requisito fondamentale della metodica (non è stato riscontrato nessun evento avverso né nessuna complicanza intra o post trattamento).
- Il trattamento non necessita né di anestetico locale, né di blanda sedazione, pur essendo l'applicazione vestibolo-vulvare più fastidiosa o dolorosa di quella vaginale. Un attento ed approfondito approccio comunicativo permette la comprensione da parte delle pazienti della necessità dell'applicazione vestibolo-vulvare e dell'effetto benefico del calore ricevuto.
- I primi risultati riguardanti l'incontinenza urinaria sono molto incoraggianti in quanto evidenziano un netto miglioramento anche di questo tipo di sintomo.
- La specifica realtà della Repubblica di San Marino, pur non permettendo la realizzazione di un protocollo standardizzato di trattamento, ha permesso però di valutare la durata dell'effetto benefico nel tempo in quanto le prime pazienti che hanno riferito la perdita del risultato hanno dichiarato un periodo di benessere dopo la prima applicazione compreso tra 6 e 9 mesi.
- Il trattamento è veloce, sicuro, assolutamente ambulatoriale, non necessita di preparazione, permettendo alla paziente di riprendere velocemente le quotidiane attività.

Il trattamento è pertanto proponibile per la terapia dell'atrofia urogenitale ed è particolarmente utile per le pazienti che non rispondono alla terapia ormonale locale o che presentano controindicazioni ad essa.

PROSPETTIVE FUTURE

Sono in fase di studio alcuni settori di trattamento, quali l'incontinenza urinaria ed il lichen sclero-atrofico.

A tal proposito sono stati eseguiti n°43 trattamenti per IUS lieve di cui 23 sottoposte a follow-up a 8 settimane. L'elaborazione dei dati è ancora in corso per tale patologia, così come quella riguardante i pochi di lichen trattati (n°8), anche se i primi risultati sembrano molto incoraggianti.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Genazzani AR, Schneider HPG, Panay N, Nijland EA.2006.*The European Menopause Survey 2005: Women's perceptions on the menopause and postmenopause hormone therapy.* Gynecol Endocrinol;22:369–75.
- (2) Simon JA, Komi J. October 3–6,2007.*Vulvovaginal atrophy negatively impacts sexual function, psychosocial well-being, and partner relationships.* Poster presented at North American Menopause Association Annual Meeting.
- (3) *Italia in cifre 2012.* Dati istat 2012.
- (4) Castelo-Branco C¹, Cancelo MJ, Villero J, Nohales F, Juliá MD.2005.*Management of post-menopausal vaginal atrophy and atrophic vaginitis.* Maturitas;52:S46–52.
- (5) Calleja-Agius J, Brincat MP.2009.*Urogenital atrophy.* Climacteric;12:279–85.
- (6) Parish SJ, Nappi RE, Krychman ML, et al.2013.*Impact of vulvovaginal health on postmenopausal women: a review of surveys on symptoms of vulvovaginal atrophy.* Int J Womens Health;5:437–47.
- (7) Nappi RE, Palacios S.2014.*Impact of vulvovaginal atrophy on sexual health and quality of life at postmenopause.* Climacteric;17:3–9.
- (8) Nappi RE, Kokot-Kierepa M.2010.*Women's voices in the menopause:results from an international survey on vaginal atrophy.* Maturitas;67:233–8.
- (9) Nappi RE, Kokot-Kierepa M.2012.*Vaginal Health:Insights, Views and Attitudes (VIVA) – results from an international survey.*Climacteric;15:36–44.
- (10) Nappi R E, Kingsberg S, Maamari R, Simon J.2013.*The CLOSER (Clarifying Vaginal Atrophy's Impact On Sex and Relationships) Survey: Implications of vaginal discomfort in postmenopausal women and in male partners.* J Sex Med;10:2232- 41.

- (11) D.W.Sturdee and N.Panay.Ottobre 2010.*Raccomandazioni per la gestione dell'atrofia vaginale postmenopausale*. International Menopause Society.
- (12) Mehta A, Bachmann G.2008.*Vulvovaginal complaints*. Clin Obstet Gynecol;51:549-55.
- (13) Simon JA.2011.*Identifying and treating sexual dysfunction in postmenopausal women: the role of estrogen*. J Womens Health (Larchmt);20:1453-65.
- (14) Levine KB, Williams RE, Hartmann K E.2008.*Vulvovaginal atrophy is strongly associated with female sexual dysfunction among sexually active postmenopausal women*. Menopause;5:661-6.
- (15) Brotman RM1, Shardell MD, Gajer P, Fadrosh D, Chang K, Silver MI, Viscidi RP, Burke AE, Ravel J, Gravitt PE.2014 May.*Association between the vaginal microbiota, menopause status, and signs of vulvovaginal atrophy*. Menopause;21(5):450-8.
- (16) Nappi RE, Kokot-Kierepa M.2012.*Vaginal Health:Insights, Views & Attitudes (VIVA) - results from an international survey*. Climacteric;15:36-44.
- (17) Brotman RM, Ravel J, Cone RA, Zenilman JM.2010.*Rapid fluctuation of the vaginal microbiota measured by Gram stain analysis*. Sex Transm Infect;86:297-302.
- (18) Petricevic L, Unger FM, Viernstein H, Kiss H.2008.*Randomized, doubleblind, placebo-controlled study of oral lactobacilli to improve the vaginal flora of postmenopausal women*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol;141:54-57.
- (19) Martin DH.2012.*The microbiota of the vagina and its influence on women's health and disease*. Am J Med Sci;343:2-9.
- (20) Srinivasan S, Liu C, Mitchell CM, et al.2010.*Temporal variability of human vaginal bacteria and relationship with bacterial vaginosis*. PLoS ONE;5:e10197.

- (21) R. Woods, N Colville, J Blazquez, A Cooper, and MI Whitehead. December 17, 2004. *Effects of red clover isoflavones (Promensil) versus placebo on uterine endometrium, vaginal maturation index and the uterine artery in healthy postmenopausal women*. *Menopause Int*;10:17.
- (22) Sinha A, Ewies AA. 2013. *Non-hormonal topical treatment of vulvovaginal atrophy: an up-to-date overview*. *Climacteric*;16:305–12.
- (23) Weed, Susun S., Weed, Susun B. *Menopausal Years: The Wise Woman Way – Alternative Approaches for Women*. Editore: Ash Tree Pub, Woodstock, New York, U.S.A., 1992.
- (24) Le Veque F, Hendrix S. 2004. *Oral pilocarpine to treat vaginal xerosis associated with chemotherapy-induced amenorrhoea in premenopausal women*. *J Clin Oncol*;22(Suppl):14S, Abst 8099
- (25) Sturdee DW, Panay N. 2010. *International Menopause Society Writing Group. Recommendations for the management of postmenopausal vaginal atrophy*. *Climacteric*;13:509–22.
- (26) NAMS. 2013. *Management of symptomatic vulvovaginal atrophy: 2013 position statement of the North American Menopause Society*. *Menopause*;20:888–902.
- (27) de Villiers TJ¹, Pines A, Panay N, Gambacciani M, Archer DF, Baber RJ, Davis SR, Gompel AA, Henderson VW, Langer R, Lobo RA, Plu-Bureau G, Sturdee DW; International Menopause Society. 2013, Jun. *Updated 2013 International Menopause Society recommendations on menopausal hormone therapy and preventive strategies for midlife health*. *Climacteric*;16(3):316-37.
- (28) Fournier A, Kernaleguen C, Panjo H, Clavel-Chapelon F, Ringa V. 2011. *Postmenopausal hormone therapy initiation before and after the Women's Health Initiative in two French cohorts*. *Menopause*;18:219–23.

- (29) Archer DF.2010.*Efficacy and tolerability of local estrogen therapy for urogenital atrophy*. Menopause;17:194–203.
- (30) Kingsberg SA, Krychman ML.2013.*Resistance and barriers to local estrogen therapy in women with atrophic vaginitis*. J Sex Med;10:1567–74.
- (31) Goldstein SR¹, Bachmann GA, Koninckx PR, Lin VH, Portman DJ, Ylikorkala O; Ospemifene Study Group.2014 Apr.*Ospemifene 12-month safety and efficacy in postmenopausal women with vulvar and vaginal atrophy*. Climacteric;17(2):173-82.
- (32) Portman DJ, Bachmann GA, Simon JA.2013.*Ospemifene Study Group. Ospemifene, a novel selective estrogen receptor modulator for treating dyspareunia associated with postmenopausal vulvar and vaginal atrophy*. Menopause;20:623–30.
- (33) Einstein A.*Zur Quanten theorie der Strahlung*1917.
- (34) Maiman TH.1960.*Stimulated optical radiation in ruby*. Nature;187:493.
- (35) S.Salvatore , R.E.Nappi, N.Zerbinati, A.Calligaro, S.Ferrero, M.Origoni ,M.Candiani and U.Leone Roberti Maggiore Department of Obstetrics and Gynecology, Vita-Salute San Raffaele University and IRCCS San Raffaele Hospital, Milan;IRCCS Policlinico S.Matteo Foundation and Department of Clinical, Surgical, Diagnostic and Pediatric Sciences, University of Pavia, Pavia; University of Insubria, Varese;University of Pavia, Pavia; Department of Obstetrics and Gynecology, San Martino Hospital and National Institute for Cancer Research, University of Genoa, Genoa, Italy.2014.*A 12-week treatment with fractional CO₂ laser for vulvovaginal atrophy:a pilot study*. Climacteric;17:1–7.
- (36) Hantash BM¹, Bedi VP, Kapadia B, Rahman Z, Jiang K, Tanner H, Chan KF, Zachary CB.2007 Feb.*In vivo Histological Evaluation of a Novel Ablative Fractional Resurfacing Device*. Lasers Surg Med; 39(2):96-107.

- (37) Graziottin A. Rovei V. Scarselli G.F. *Fisiologia della lubrificazione vaginale*. In: Jannini E.A. Lenzi A. Maggi M. (Eds), *Sessuologia Medica. Trattato di psicossessuologia e medicina della sessualità*. Elsevier Masson, Milano, 2007, p. 117-119
- (38) Giraldi A, Levin R. *Vascular physiology of female sexual function*. In: Goldstein I et al (Eds), *Women's sexual function and dysfunction. Study, diagnosis and treatment*. Taylor & Francis, London, 2006, pp. 174-180.
- (39) Giuliano F, Rampin O, Allard J. 2002. *Neurophysiology and pharmacology of female genital sexual response*. J. Sex Marital Ther, 28 (Suppl 1):101-121.
- (40) *MonnaLisa Touch™: l'ultima frontiera per il trattamento dell'atrofia vaginale* a cura di L.Ronconi e M.Galli.
- (41) Adrian Gaspar, Gabriel Addamo, and Hugo Brandi. 2011. *Vaginal Fractional CO₂ Laser: A Minimally Invasive Option for Vaginal Rejuvenation*. American Journal of Cosmetic Surgery, Vol. 28, No. 3, pp. 156-162.
- (42) <http://www.aogoi.it/>
- (43) <http://www.ginecologia.it/>
- (44) <http://www.sigo.it/home/>
- (45) <http://www.ginecolink.net/>