

A cura di L. Ronconi e M. Galli

**MonnaLisa Touch™: l'ultima frontiera
per il trattamento dell'atrofia vaginale**

Procedura **MonnaLisa Touch™**
approvata dai Ginecologi Italiani

AGOGI

ASSOCIAZIONE
OSTETRICI GINECOLOGI
OSPEDALIERI ITALIANI



The Code of Excellence

*Un ringraziamento particolare al Prof. Alberto Calligaro
per il suo paziente, tempestivo e insostituibile supporto.*

Lara Ronconi
Ingegnere Elettronico Biomedicale
Medical Branch Supervisor
DEKA Company

Comitato Scientifico



Alberto Calligaro

Professore di Istologia ed Embriologia nel Corso di Laurea in lingua inglese in Medicine and Surgery attivo nell'Università di Pavia dal 2009. Già Preside della Facoltà di Medicina e Chirurgia della stessa Università, afferisce all'Unità di Istologia ed Embriologia del Dipartimento di Sanità Pubblica, Neuroscienze, Medicina Sperimentale e Forense.



Massimo Candiani

Direttore dell'unità operativa di Ostetricia e Ginecologia di Ostetricia e Ginecologia Facoltà di Medicina e Chirurgia Milano. Direttore del Dipartimento Materno Infantile dell'Ospedale San Raffaele. Direttore Clinica Universitaria ed Unità Operativa Complessa di Ostetricia e Ginecologia dell'Ospedale San Raffaele.



Mauro Galli

Dottore in Fisica, con dottorato di specializzazione in Fisica del Laser. Responsabile dell'ufficio Commerciale e Marketing Internazionale della società DEKA, membro del direttivo in numerose società del Gruppo El.En. di cui fa parte la stessa DEKA.



Maurizio Filippini

Responsabile del modulo funzionale di Endoscopia Ginecologica dell'Ospedale di Stato della Repubblica di San Marino.



Rossella Nappi

Professore Associato della Sezione di Clinica Ostetrica & Ginecologica, Dipartimento di Scienze Morfologiche, Eidologiche e Cliniche dell'Università degli Studi di Pavia.

Svolge la sua attività di ginecologa, endocrinologa e sessuologa presso il Centro di Ricerca per la Procreazione Medicalmente Assistita e l'Ambulatorio di Endocrinologia Ginecologica & della Menopausa, Clinica Ostetrica e Ginecologica dell'IRCCS Fondazione San Matteo di Pavia.



Stefano Salvatore

Responsabile Unità Funzionale Uroginecologia – IRCCS San Raffaele, Milano. Professore a Contratto Università Vita e Salute San Raffaele Milano. Visiting Professor Imperial College St Mary's Hospital, University of London, UK. Membro del Comitato Scientifico dell'International Urogynecological Association. Vicepresidente Società Europea di Uroginecologia.



Nicola Zerbinati

Medico Dermatologo, titolare del corso di Laurea in Dermatologia e Venereologia dell'Università degli Studi dell'Insubria. Amministratore del CMP (Centro Medico Polispecialistico). Coordinatore Scientifico ICAM (USA International Consultant in Aesthetic Medicine). Coordinatore scientifico e Professore IUL (International Union of Lipoplasty). Coordinatore Scientifico IACG (International Academy of Cosmetic Gynaecology).

INDICE

Indice	8
Prefazione	12
Capitolo 1	14
Atrofia vaginale: cambiamenti che influiscono sulla qualità della vita	
1.1	Introduzione 14
1.2	La menopausa 16
1.2.1	Terminologia e definizioni 16
1.2.2	Comparsa, durata, sintomi 17
1.3	Atrofia vaginale 18
1.3.1	Alterazione dell'epitelio della mucosa vaginale 20
1.3.2	Secchezza vaginale 21
1.3.3	Aumento del pH e diminuzione dei lattobacilli vaginali 22
1.3.4	Trattamenti e terapie 22
1.3.4.1	Trattamenti non-ormonali, lubrificanti e idratanti 24
1.3.4.2	Preparazioni fitoestrogeniche 25
1.3.4.3	Terapia ormonale sostitutiva 27
1.3.4.4	Tibolone 32
1.3.4.5	Terapia estrogenica locale o transdermica 32
1.4	Conclusioni 34
1.5	Bibliografia 35

Il laser: la luce in medicina

2.1	Premessa	37
2.2	Cenni storici	37
2.3	Principio di funzionamento	38
2.4	Caratteristiche della luce laser	40
2.5	Tipi di laser	42
2.5.1	Laser a CO ₂	44
2.6	Interazione laser e tessuti biologici	44
2.6.1	Le proprietà ottiche dei tessuti	46
2.7	Cenni Sull'impiego del Laser In Dermatologia	49
2.7.1	Laser a CO ₂ in dermatologia	51
2.7.2	Laser a Neodimio (Nd:YAG) in dermatologia	52
2.7.3	Laser ad Alessandrite in dermatologia	53
2.7.4	Laser a colorante (dye laser) in dermatologia	54
2.7.5	Laser a Erbio (Er:YAG) in dermatologia	54
2.8	Cenni sulle applicazioni del laser in altre branche della medicina	55
2.8.1	Oftalmologia	55
2.8.2	Ginecologia	55
2.8.3	Otorinolaringoiatria	56
2.8.4	Urologia	57
2.8.5	Odontostomatologia	58
2.8.6	Oncologia	59
2.8.7	Terapia di aritmie cardiache	60
2.8.8	Biostimolazione	60
2.9	Cenni sull'impiego del laser per la conservazione di opere d'arte	60
2.10	Bibliografia	61

***MonnaLisa Touch™: la prima tecnica laser-assistita
per il trattamento dell'atrofia della mucosa vaginale.***

3.1	Introduzione	63
3.2	Deka e il laser a CO ₂	64
3.2.1	<i>DOT Therapy</i> : il fotoringiovanimento frazionato micro-ablativo	65
3.2.1.1	Tecnologia a emissione pulsata SmartPulse	69
3.2.1.2	Funzione SmartStack	70
3.3	Dal fotoringiovanimento della pelle a quello della mucosa vaginale	70
3.3.1	Cute vs. mucosa vaginale	72
3.4	Dall'indagine clinica alla necessita' di una ricerca microscopica ultrastrutturale	79
3.5	Osservazioni microscopiche e ultrastrutturali sulla mucosa vaginale dopo trattamento con laser CO ₂ frazionato	80
3.5.1	Indagine con microscopio a luce polarizzata	83
3.5.2	Indagine con microscopio elettronico a trasmissione	86
3.5.3	Discussione	95
3.6	Implicazioni pratiche sui sintomi dell' atrofia vaginale	96
3.7	Utizzo del laser CO ₂ nel trattamento dell'atrofia vaginale	100
3.7.1	Valutazione dei risultati clinici	103
3.7.2	Valutazione dei risultati istologici (da esami al microscopio e ultrastrutturali)	106
3.8	<i>MONNALISA TOUCH™: UNA TECNICA IN COSTANTE EVOLUZIONE</i>	113
3.8.1	Conclusioni	116
3.9	Bibliografia	116
3.10	DEKA E AGOI: INTERVISTA AL SEGRETARIO NAZIONALE AGOI PROF. A. CHIÀNTERA	118

APPENDICE A

Risultati istologici completi prima e dopo il trattamento 120

APPENDICE B

MonnaLisa Touch™ pubblicazioni scientifiche 127

APPENDICE C

MonnaLisa Touch™ White Papers 146

PREFAZIONE

Questa pubblicazione ha lo scopo di presentare un trattamento nuovo e innovativo per l'atrofia vaginale, una condizione diffusa tra la popolazione femminile, soprattutto durante la menopausa.

Come tutte le idee rivoluzionarie, questo metodo, denominato *MonnaLisa Touch™*, deve essere presentato e illustrato a tutti i soggetti coinvolti, ossia professionisti sanitari, mezzi di comunicazione e pazienti. È evidente che il linguaggio utilizzato in una pubblicazione deve essere adeguato al lettore. Vista la necessità di elaborare un unico documento introduttivo rivolto a un pubblico eterogeneo, abbiamo cercato e trovato un equilibrio tra "chiarezza" e "precisione" adottando il linguaggio più chiaro possibile per semplificare i concetti tecnici. In caso non fossimo sempre riusciti nell'intento, abbiamo pensato di fornire tre link dove i lettori possono trovare maggiori informazioni specifiche:

1. www.monnalisatouch.it - AREA DOTTORI
2. www.dekalaser.com - APPLICAZIONI - V²LR

Entrambi i siti web sono rivolti ai professionisti sanitari.

Il primo sito web è interamente dedicato a *MonnaLisa Touch™* con spiegazioni dettagliate, bibliografia aggiornata e tutte le notizie relative a questa procedura.

Il secondo è il sito web ufficiale di DEKA, nel quale il trattamento *MonnaLisa Touch™* è illustrato nel più ampio contesto del V²LR (Vulvo-Vaginal Laser Reshaping): un nuovo campo di applicazione per l'apparato urogenitale femminile con trattamenti in grado di migliorare l'aspetto estetico e di prevenire e curare numerosi problemi che compaiono durante la menopausa. Il sito web di DEKA per professionisti sanitari offre descrizioni dettagliate dei sistemi laser disponibili per l'esecuzione della procedura *MonnaLisa Touch™*.

3. www.monnalisa-touch.it - AREA PAZIENTI

Questo sito web, rivolto ai mezzi di comunicazione e alle pazienti, contiene sezioni chiare e semplici sul nuovo metodo *MonnaLisa Touch™*, con video e pubblicazioni correlati, e permette di chiedere chiarimenti agli esperti in merito a questo argomento.

Il libro è suddiviso in tre capitoli, con i seguenti contenuti:

- Il primo capitolo è incentrato sull'atrofia vaginale e ne descrive la natura, i sintomi e i problemi correlati. Inoltre, fornisce informazioni sui possibili trattamenti attualmente a disposizione. Questo capitolo ha lo scopo di chiarire meglio il problema che intendiamo risolvere grazie al trattamento *MonnaLisa Touch™*.
- Il secondo capitolo riguarda la tecnologia laser. Il metodo *MonnaLisa Touch™* si basa infatti sull'uso di un particolare laser CO₂ frazionale con un impulso dedicato. Per questo motivo abbiamo ritenuto che fosse interessante fornire alcune informazioni su questo strumento affascinante, ampiamente utilizzato sia in medicina sia in altri campi.
- Infine, il terzo capitolo presenta il trattamento *MonnaLisa Touch™*: in che cosa consiste, come funziona, e quali sono gli ultimi risultati degli studi clinici e istologici. Senza dubbio, la comprensione delle immagini istologiche non è immediata per i non esperti. Tuttavia, abbiamo cercato di spiegare nel modo più semplice e chiaro possibile le conclusioni tratte dai risultati istologici, riservando gli approfondimenti più tecnici alle pubblicazioni scientifiche.

Capitolo 1

Atrofia vaginale: cambiamenti che influiscono sulla qualità della vita

1.1 INTRODUZIONE

Il presente capitolo ha lo scopo di introdurre le problematiche legate all'atrofia vaginale, una patologia molto diffusa nella popolazione femminile, soprattutto in menopausa, anche se spesso sembra sconosciuta o ignorata da medici e pazienti.

Prima di affrontare questa tematica da un punto di vista più clinico è utile presentare e conoscere meglio quale sia oggi il contesto culturale e sociale delle donne in età menopausica in Italia. Il primo passo da cui partire è quindi capire chi sono oggi le donne che transitano nei cinquant'anni e dintorni.

Agli inizi del 1900, la speranza di vita della donna coincideva con la conclusione dell'età fertile e comunque, per quelle poche che superavano la menopausa, iniziava un declino biologico e della vita di relazione che di fatto le estraniava dal contesto relazionale.

Oggi più del 95% delle donne raggiunge l'età della menopausa con un'aspettativa di vita, per una 65-enne, di altri 21,9 anni^[1].

Sono circa cinque milioni le donne tra i 45 e i 55 anni, sicuramente diverse tra loro ma anche con tratti riconducibili a un percorso comune.

Queste sono le donne che sono entrate nel mondo del

lavoro in modo diffuso come mai era accaduto per le generazioni precedenti, soprattutto le diplomate e le laureate (nel 1980 le donne laureate rappresentavano il 44% di tutti i laureati^[2], percentuale questa in crescita negli anni successivi). Sono le donne che hanno potuto usufruire delle trasformazioni sostanziali che hanno fatto dell'Italia un paese più moderno: la possibilità di contraccezione, il divorzio, l'aborto, la parità sul lavoro, il nuovo diritto di famiglia.

Le donne di questa generazione sono state "protagoniste", ponendosi prepotentemente al centro della scena sociale e collettiva, sviluppando al contempo una capacità di analisi di sé e di autoriflessione sconosciuta alle generazioni precedenti. È dunque una generazione forte che è teoricamente in possesso di maggiori strumenti per affrontare la seconda parte della propria vita, che ha voglia di cambiare, che non si sente affatto rassegnata in vista del futuro. E' una generazione ancora attiva, un po' per vocazione e un po' per necessità viste le nuove responsabilità che deve assumersi. E' infatti una generazione "sandwich" schiacciata dai compiti di cura di giovani e anziani: tra i 45 e i 55 anni otto donne su dieci vivono oggi con almeno un figlio in casa^[3] mentre i genitori anziani richiedono sempre più cure, assistenza e aiuto. Alcune hanno anche nipoti da seguire per permettere a figlie e nuore di rimanere sul mercato del lavoro. Anche loro molto spesso lavorano e se si sono affermate nella propria professione, è questa anche la fase in cui l'impegno diventa più gravoso per non correre il rischio di essere facilmente rimpiazzate dalle giovani generazioni.

Infine, questa generazione di donne cinquantenni ha la consapevolezza che restano ancora molti anni di vita e questi non dovranno essere residuali o marginali, ma anni tutti da vivere! Con la coscienza di un'aspettativa di vita

superiore ai 30 anni dopo la menopausa è dunque forte la necessità di porre attenzione alle esigenze di una donna in epoca post-climaterica. Anche la società, le istituzioni e i *media* sono sempre più consapevoli di queste nuove necessità e per questo la salute e la qualità di vita della donna in menopausa e in postmenopausa rappresentano un tema sempre più emergente.

1.2 LA MENOPAUSA

1.2.1 Terminologia e definizioni

Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) per *menopausa spontanea* si intende la definitiva cessazione dei cicli mestruali (amenorrea) derivante dalla perdita della funzione follicolare ovarica, la cui diagnosi avviene retrospettivamente dopo 12 mesi consecutivi di amenorrea per la quale non sia stata evidenziata un'altra causa fisiologica o patologica.

L'età della menopausa varia da individuo a individuo con una media di circa 50 anni a livello mondiale.

La menopausa si definisce come *prematura* o *precoce* quando si verifica prima dei 40 anni (OMS), e può essere sia spontanea che indotta. I sintomi associati sono sempre quelli della carenza estrogenica.

Si definisce *menopausa indotta* la cessazione della mestruazione che segue o alla rimozione chirurgica di entrambe le ovaie (con o senza isterectomia, ovvero rimozione dell'utero) o la soppressione della funzione ovarica dovuta a farmaci (chemioterapia, radiazioni, farmaci antitumorali come il tamoxifene) (OMS).

Il termine *postmenopausa* si riferisce a tutto il periodo che segue l'ultima mestruazione indipendentemente dal tipo di menopausa (spontanea o indotta) (OMS).

Il termine *perimenopausa* include il periodo immediatamente prima della menopausa fino al primo anno dopo l'ultima mestruazione (OMS).

A questo elenco di definizioni stabilite e riconosciute a livello internazionale dall'OMS nel 1990, la *International Menopause Society* (IMS) nel 1999 ha aggiunto quella di *climaterio*, definendolo come quella fase della vita della donna che precede e segue, per un periodo variabile, la transizione dalla fase riproduttiva a quella non riproduttiva, includendo quindi la perimenopausa ed estendendosi a un periodo più lungo prima e dopo la perimenopausa.

1.2.2 Comparsa, durata, sintomi

La menopausa si associa a numerosi cambiamenti che coinvolgono virtualmente tutti gli organi e apparati dell'organismo femminile.

Le alterazioni endocrine che caratterizzano la perimenopausa si manifestano principalmente con alterazioni del ritmo e della quantità del flusso mestruale. Circa il 90% delle donne prima della menopausa sperimenta irregolarità mestruali che possono durare dai 4 agli 8 anni^[4].

In ordine di frequenza, subito dopo le irregolarità mestruali in perimenopausa, e al primo posto una volta cessati i flussi, vengono i *sintomi vasomotori*, tipici della carenza estrogenica, (vampate, sudorazioni notturne) e i disturbi del sonno ad essi conseguenti, definiti anche come sintomi a breve termine poiché tendono a scomparire in prossimità della completa cessazione della produzione estrogenica ovarica. Per i sintomi vasomotori si stima che ne soffrano fino all'85% delle donne^[4].

Più tardi in postmenopausa possono comparire i *disturbi del trofismo urogenitale* (irritazione vaginale con prurito e

bruciore, secchezza e dispareunia conseguenti all'atrofia vulvo-vaginale; disturbi della minzione conseguenti all'atrofia uretrale), definiti come sintomi a medio termine e che possono peggiorare con il passare degli anni, a differenza dei sintomi vasomotori che invece tendono a scomparire.

1.3 ATROFIA VAGINALE

La perdita della produzione di estrogeni da parte delle ovaie si associa all'insorgenza di atrofia vaginale. Il tratto genitale è infatti particolarmente sensibile al declino estrogenico e circa la metà di tutte le donne in postmenopausa lamentano i sintomi tipici dell'atrofia genitale che interferiscono pesantemente con la funzione sessuale e la qualità di vita.

Mentre le vampate di calore e le sudorazioni notturne si risolvono spontaneamente nel tempo, i sintomi correlati all'atrofia della vagina e del basso tratto urinario spesso peggiorano nel tempo e nella maggior parte dei casi necessitano di un trattamento specifico.

L'atrofia vaginale si rende clinicamente evidente 4–5 anni dopo la menopausa e le modificazioni oggettive, così come i sintomi soggettivi, sono presenti nel 25–50% di tutte le donne in postmenopausa^[5]. Le problematiche associate non sono sempre denunciate dalle pazienti al proprio medico e pertanto l'incidenza sopra riportata è sicuramente sottostimata.

L'atrofia si verifica in conseguenza sia della menopausa naturale, sia della menopausa chirurgica che porta alla rimozione delle ovaie, sia di trattamenti per alcune condizioni mediche che richiedono la radioterapia della pelvi o la chemioterapia con conseguente alterazione della funzione ovarica.

La salute vaginale delle donne europee in postmenopausa (di età compresa tra i 45 e i 59 anni) è stata studiata nell'ambito di un'intervista europea condotta su larga scala^[6] (su un campione di ben 4201 donne) allo scopo di indagare le opinioni, le attitudini e le percezioni delle donne in età climaterica sulla menopausa in generale e sulle terapie della sintomatologia menopausale. Dallo studio è emerso che le donne europee devono essere informate ed educate meglio sulle implicazioni dell'atrofia vaginale per la loro qualità di vita. Da un altro studio nord-americano risulta che, nonostante la straordinaria prevalenza e diversificazione dei sintomi associati all'atrofia urogenitale, soltanto il 25% circa delle donne che ne soffre comunica spontaneamente questi problemi al proprio medico curante e il 70% riporta che solo raramente (o addirittura mai!) il proprio medico rivolge loro domande su problemi come la secchezza vaginale^[7]. D'altro canto, sembrerebbe che sia le pazienti che i loro medici tendano in modo del tutto simile ad attribuire i sintomi al processo inevitabile e naturale dell'invecchiamento. Pare comunque evidente da questo studio che mentre le donne sono molto consapevoli del legame tra le vampate di calore e il declino dei livelli estrogenici, lo stesso non si può dire in relazione al tema del fastidio vaginale.

Il declino dei livelli circolanti di estrogeni associato alla transizione menopausale è strettamente correlato a:

- alterazione della morfologia dell'epitelio della mucosa vaginale,
- riduzione del flusso sanguigno e della secrezione del fluido vaginale (secchezza vaginale),
- diminuzione dei lattobacilli vaginali e aumento del pH.

Vale sicuramente la pena di analizzare maggiormente da vicino tutte queste alterazioni per circoscrivere compiutamente il problema.

1.3.1 Alterazione dell'epitelio della mucosa vaginale

L'epitelio della mucosa vaginale ha una funzione importante nel proteggere la mucosa stessa anche dallo sfregamento meccanico conseguente all'atto sessuale. Con il declino estrogenico l'epitelio diventa sottile e, per questo, maggiormente suscettibile a traumi (figura 1.1).

La diminuzione del collagene nel tessuto connettivo della mucosa vaginale, che ha la funzione di supporto dell'epitelio, causa la perdita della normale rugosità dell'interno della vagina. L'assottigliamento dell'epitelio e la perdita delle pliche rugose vaginali si manifestano solitamente 2–3 anni dopo l'inizio della menopausa^[5].

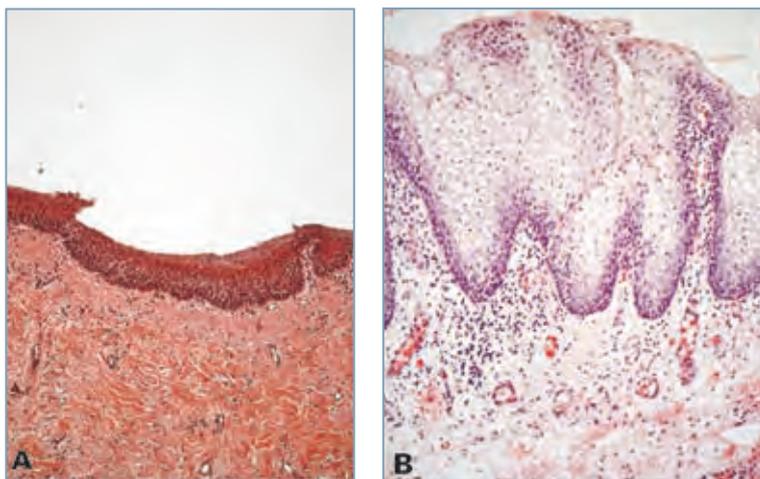


Fig. 1.1 - Preparazioni istologiche della mucosa vaginale colorata con ematossilina e eosina (H&E). (A): Mucosa vaginale in postmenopausa dove è presente atrofia correlate alla deficienza estrogenica con ridotta presenza di vasi e l'epitelio marcatamente assottigliato con scarsità di glicogeno. (B): 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.]

1.3.2 Secchezza vaginale

L'atrofia vaginale è uno dei più importanti fattori che interferiscono con la funzione sessuale, con seguiti significativi sulla qualità della vita di una donna. E' facile intuire come la salute vaginale sia di fondamentale importanza per la salute sessuale. Gli estrogeni modulano il processo emodinamico coinvolto nel ciclo della risposta sessuale per cui, a causa della carenza estrogenica, le donne in menopausa riportano frequentemente secchezza vaginale e, se sono sessualmente attive, possono riferire disturbi importanti della sessualità come il dolore durante l'atto sessuale (dispareunia). Durante l'attività sessuale le donne possono riportare modificazioni delle sensazioni genitali, della vasocongestione e della lubrificazione, che possono a loro volta indurre altri sintomi quali il ridotto desiderio sessuale, la scarsa eccitazione, il deficit orgasmico e una conseguente alterata soddisfazione sessuale. Inoltre la salute del tratto urinario è strettamente correlata con la sintomatologia vaginale, soprattutto in assenza di estrogeni. Sintomi urinari come l'elevata frequenza urinaria, soprattutto notturna (nicturia), l'urgenza urinaria, il dolore durante la minzione (disuria), l'incontinenza e le infezioni postcoitali sono riportati con maggior frequenza quando è presente un certo grado di atrofia vaginale.

La secchezza vaginale in menopausa quindi, anche se non è necessariamente associata all'attività sessuale, è maggiormente riferita dalle donne sessualmente attive proprio a causa della frequente associazione a dolore durante il rapporto sessuale.

1.3.3 Diminuzione dei lattobacilli vaginali e aumento del pH

La normale acidità di una vagina estrogenizzata è usualmente compresa tra valori di acidità (pH) moderatamente bassi (sono da ritenersi come valori normali del pH quelli tra 3,5 e 5,0, che favoriscono la flora lattobacillare). Quando le concentrazioni di estrogeni si riducono significativamente il valore del pH aumenta passando a valori tra 6,0 e 8,0, quindi più basici, che favoriscono il proliferare di micro-organismi patogeni, come funghi e batteri^[5]. Questo pH più basico, è responsabile anche della presenza di cattivo odore.

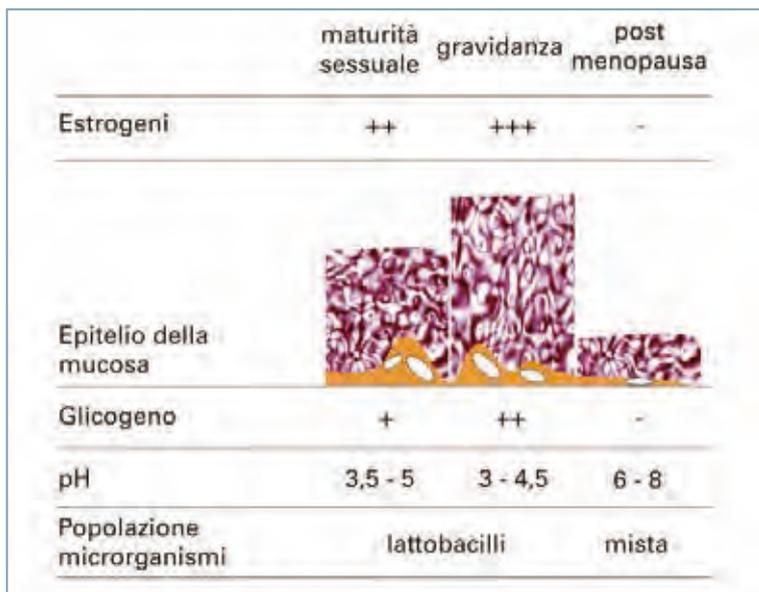


Fig. 1.2 - Ambiente vaginale in diverse età e condizioni fisiologiche della donna.

1.3.4 Trattamenti e terapie

Spesso si ha l'impressione che i sintomi, i disturbi e i fastidi della menopausa siano una scoperta dei nostri tempi.

In realtà sono esistiti da sempre, anche quando poco esplicitati o trascurati nelle testimonianze mediche.

Come precedentemente accennato i più comuni sintomi dell'atrofia vaginale includono la secchezza (stimata al 75%), la dispareunia (stimata al 38%) e il bruciore, le perdite e il dolore (stimati al 15%)^[5].

Medio Evo: rimedi per eliminare gli umori corrotti

- Erbe stimolanti la mestruazione (Emmenagoghi);
- Sanguisughe sulle grandi labbra;
- Purganti;
- Vescicanti.

Nell'800 si sviluppano particolari rimedi contro "L'inferno delle donne"; Tilt consiglia come calmanti, oppio e cannabis, e successivamente il bromuro "... per evitare che le donne ricorressero all'alcol, le più povere al porter e al gin, le più ricche al vino ed al brandy..."

Nel 1886 i sintomi della menopausa vengono chiaramente collegati alla cessata funzione ovarica: ciò porta a specifiche terapie ormonali.

Inizio del XX secolo

- Elettroshock (Fritsch 1906), Radioterapia (Pals 1923)
- Innesto nell'ovaio (Foà 1900), Trapianto ovarico (Pala 1910)
- Estratti secchi di ovaio ovino (Gelst & Spielman 1932)
- Frullati freschi di placenta (da bere?)
- Ipodermoclisi di urine di donne gravide

Tab. 1.1 - Diverse terapie proposte nel tempo per la menopausa^[8].

I principi della terapia nelle donne con atrofia vaginale conclamata sono:

- *Il recupero della fisiologia genitale*

La carenza estrogenica postmenopausale comporta un progressivo declino del trofismo dell'epitelio vaginale e il rationale per la terapia dell'atrofia vaginale si basa sul fatto che lo stato fisiologico di questi tessuti venga riportato alla normalità.

- *Il sollievo dai sintomi*

Il ripristino della fisiologia genitale comporta il sollievo di molti sintomi vaginali fastidiosi come la secchezza, la dispareunia superficiale e profonda, il sanguinamento vulvovaginale, l'infiammazione e le perdite.

Di seguito sono brevemente presentati i più diffusi trattamenti per l'atrofia vaginale.

1.3.4.1 Trattamenti non-ormonali, lubrificanti e idratanti

I lubrificanti e i trattamenti non-ormonali per l'atrofia vaginale consistono soprattutto in una combinazione di agenti protettivi solubili in una base acquosa e di sostanze non ormonali che hanno un'azione di stimolazione sull'epitelio vaginale. I lubrificanti sono utilizzati soprattutto per dare sollievo alla secchezza vaginale durante il rapporto sessuale e dunque non rappresentano una soluzione a lungo termine. Mentre i lubrificanti oleosi non dovrebbero mai essere usati con i preservativi in lattice (possono causarne la rottura), i lubrificanti acquosi possono essere usati in modo sicuro, ma in alcune donne provocano

bruciore dovuto alla componente alcolica o ai conservanti. Gli olii e le creme naturali di origine vegetale possono essere di aiuto, ma alcuni possono causare dermatiti da contatto aumentando il prurito e il fastidio.

Le sostanze idratanti sono polimeri complessi che si comportano come dei bioadesivi che aderiscono alle cellule epiteliali della parete vaginale e alle mucine trattenendo acqua, e sono normalmente eliminate dal turnover cellulare dell'epitelio. Alcuni dati suggeriscono che gli agenti idratanti e alcune altre sostanze possono avere un effetto duraturo se il loro utilizzo è costante. In ogni modo dagli studi controllati pubblicati fino ad ora risulta che l'efficacia sui sintomi vaginali è più bassa rispetto a quella della terapia topica estrogenica.

Le opzioni terapeutiche non ormonali sono indicate soprattutto nelle donne che desiderano evitare l'assunzione di terapia ormonale o in donne ad alto rischio con storia di patologie maligne sensibili agli ormoni, come il tumore della mammella o il tumore dell'endometrio.

La maggior parte dei prodotti lubrificanti e idratanti si acquistano direttamente senza prescrizione medica, ma possono essere piuttosto costosi.

1.3.4.2 Preparazioni fitoestrogeniche

Si definisce fitoestrogeno qualsiasi molecola non steroidea prodotta dal mondo vegetale che si lega ai recettori degli estrogeni. Soia e trifoglio rosso sono le principali fonti naturali di queste molecole. Alcuni dati in letteratura hanno dimostrato un effetto benefico delle preparazioni fitoestrogeniche sull'apparato urogenitale ma è da tener presente che queste preparazioni non sono realmente "non ormonali" ed esercitano effetti di tipo estrogenico.

La sicurezza dei fitoestrogeni non è ancora stata veramente dimostrata. Non possono infatti essere considerati come risultati attendibili quelli riportati dagli studi epidemiologici relativi all'assunzione di fitoestrogeni attraverso gli alimenti. L'impiego dei fitoestrogeni come integratori implica infatti un'assunzione con dosaggi molto più alti rispetto a quello che si ottiene con la dieta quotidiana tipica soprattutto di alcune popolazioni orientali.

Inoltre la conoscenza delle proprietà farmacocinetiche dei singoli fitoestrogeni è un requisito essenziale prima che essi possano essere studiati in studi clinici di lunga durata e al momento attuale la farmacocinetica dei singoli fitoestrogeni non è nota. L'assorbimento dei fitoestrogeni varia da soggetto a soggetto e, anche nella stessa persona, in relazione all'alimentazione complessiva, all'uso di antibiotici e alla presenza di patologie intestinali.

In vivo, i fitoestrogeni possono avere anche azioni antiestrogeniche riducendo in questi casi la quota libera di estrogeni nel sangue. Infine dobbiamo ricordare che le azioni ormonali di queste molecole non si limitano agli estrogeni ma riguardano anche gli androgeni, avendo un'azione antiandrogenica, e gli ormoni tiroidei. Gli effetti antitiroidei potrebbero portare a insufficienza tiroidea specialmente in situazioni in cui lo iodio è scarso.

Il rapporto rischio/beneficio dei fitoestrogeni in relazione al cancro della mammella è uno dei punti di maggior dibattito. Fino ad oggi gli studi clinici condotti al riguardo sono del tutto inadeguati per arrivare a una conclusione sull'argomento e pertanto sono necessarie nuove ricerche per evidenziare gli effetti dei fitoestrogeno sul rischio del carcinoma mammario.

Essendo considerati "integratori alimentari" la loro immissione in commercio non è soggetta a quei controlli di qualità, efficacia e tollerabilità che regolano invece le specialità medicinali.

In conclusione, i dati clinici sull'uso dei fitoestrogeni in menopausa non danno una chiara dimostrazione di efficacia e sicurezza.

1.3.4.3 Terapia ormonale sostitutiva

Numerosi studi hanno dimostrato l'efficacia della Terapia Ormonale Sostitutiva (TOS) nel trattamento dell'atrofia vaginale. L'efficacia si limita però al periodo di trattamento, per poi cessare al termine dello stesso (assenza di "effetto memoria" delle terapie ormonali). Di seguito è presentata brevemente la storia della diffusione e dell'impiego della TOS dal suo esordio fino a oggi per poter meglio comprendere quale siano attualmente le linee guida consigliate per il corretto impiego di questa terapia, soprattutto in funzione del rapporto rischi/benefici.

Prima però si rende necessaria una sommaria descrizione delle principali categorie di ormoni interessati nella TOS, divisibili tra estrogeni e progestinici.

Gli estrogeni sono i principali ormoni sessuali femminili e sono principalmente prodotti dai follicoli ovarici.

Si tratta di ormoni steroidei, che prendono il loro nome dall'*estro* e sono presenti in entrambi i sessi, anche se nelle donne in età fertile raggiungono livelli sierici molto più alti rispetto all'uomo. Gli estrogeni promuovono la formazione dei caratteri sessuali secondari femminili, come il seno, l'allargamento del bacino e sono coinvolti nella proliferazione dell'endometrio e in diversi fenomeni del ciclo mestruale.

Il progesterone è tra i più comuni ormoni naturali, ed è principalmente prodotto dall'organismo femminile. Gli ormoni progestinici sono invece sostanze dotate delle

stesse proprietà del progesterone naturale, ma ottenute per sintesi. Sia il progesterone che gli ormoni progestinici sintetici vengono impiegati in vari campi che vanno dalla pillola contraccettiva alla terapia ormonale sostitutiva, e solitamente vengono associati alla funzione degli estrogeni per ridurre l'incidenza del tumore dell'endometrio in pazienti con utero, trattate con soli estrogeni.

Nella letteratura scientifica con il termine *Hormone Replacement Therapy (HRT)* è indicata genericamente la somministrazione di estrogeni, da soli o in associazione ai progestinici, in donne in postmenopausa, per compensare la carenza estrogenica conseguente alla cessazione della produzione ovarica. Limitatamente al nostro paese si possono ritrovare i termini TOS (Terapia Ormonale Sostitutiva) e TES (Terapia Estrogenica Sostitutiva).

L'impiego della terapia estrogenica prima, e poi di quella estrogenico-progestinica, diventa sempre più diffuso a partire dagli anni '70. Negli anni '80-90 i primi studi osservazionali evidenziano (erroneamente) il ruolo benefico degli estrogeni, somministrati nelle donne in menopausa, nella prevenzione delle malattie cardiovascolari. Analogamente viene riscontrato un miglioramento anche dell'osteoporosi. Il ruolo degli estrogeni, da puramente terapeutico, diventa allora preventivo: non solo per eliminare i disturbi della menopausa, ma anche per prevenire gli esiti negativi delle patologie maggiormente causa di infermità come le malattie cardiovascolari e l'osteoporosi. Con questo intento inizia, soprattutto in USA, un utilizzo degli estrogeni rivolto a interi segmenti di popolazione, quindi una prescrizione massiva e prolungata della terapia ormonale in menopausa.

Women's Health Initiative

Nei primi anni '90 il *National Institute of Health* sponsorizza

uno studio a lungo termine di prevenzione primaria per individuare quelle strategie che potessero potenzialmente ridurre le coronaropatie, il cancro del seno, del colon-retto e le fratture in donne apparentemente sane in postmenopausa. Tale studio è noto come *Women's Health Initiative (WHI)*.

Il *WHI* è costituito da uno studio osservazionale e da più *trial* di cui due sull'uso della TOS, rispettivamente in donne con e senza utero.

In particolare questi ultimi due *trial* sono stati concepiti per verificare i rischi e i benefici della TOS, così com'era atteso dall'evidenza accumulata fino allora, soprattutto la riduzione delle fratture osteoporotiche ma anche la diminuzione del 35% del rischio della patologia coronarica.

Il reclutamento per questi due *trial* è durato circa 5 anni dal 1993 al 1998 e ha coinvolto 40 centri statunitensi per arrivare a includere 16.608 donne con utero nel primo *trial* e 10.739 donne senza utero nel secondo *trial*, di età compresa tra i 50 e i 79 anni e assegnate, in maniera randomizzata e in doppio cieco, a ricevere il trattamento o semplicemente un placebo.

Nel luglio del 2002 il *trial* del *WHI* sull'uso della TOS in donne con utero viene interrotto dopo circa 5 anni di *follow up*, quando ne erano previsti circa 8, a causa dei risultati che hanno evidenziato un aumento dei rischi rispetto ai benefici. Nelle donne trattate con TOS i rischi includevano un significativo incremento del rischio di cancro al seno (26%), di coronaropatie (29%), di ictus (41%) e di tromboembolismo venoso (113% di embolia polmonare e 107% di trombosi venosa profonda).

I benefici includevano una riduzione delle fratture da osteoporosi (-34%) e di cancro del colon (-37%)^[9].

Il *WHI* è il primo trial clinico randomizzato e controllato con placebo che conferma l'esistenza di un aumento di rischio per il tumore della mammella e che lo quantifica. Inoltre, dai risultati del *WHI* emerge chiaramente che i dati degli studi osservazionali sulle capacità di prevenzione per le patologie cardiovascolari erano errati.

Nel febbraio del 2004 viene interrotto anche il trial su donne isterectomizzate dopo un *follow up* di 6,8 anni per aver osservato, nelle donne trattate con soli estrogeni un aumento del rischio di ictus paragonabile a quello emerso nel trial condotto nelle donne con utero e che assumevano anche i progestinici (rischio aumentato del 39%), pur non avendo osservato né un aumento di eventi coronarici (rischio ridotto del 9%) né di tumore della mammella (rischio ridotto del 23%).

Complessivamente i risultati ottenuti con soli estrogeni sono migliori di quelli ottenuti con estrogeni e progestinici. L'effetto peggiorativo sembra quindi dovuto all'aggiunta di questi ultimi. Non è però possibile pensare di non somministrare progestinici in donne con utero, a causa dell'elevata incidenza del tumore dell'endometrio nei trattamenti con soli estrogeni. E' comunque da sottolineare che l'effetto a lungo termine, anche dei soli estrogeni, sul rischio di cancro al seno rimane non conosciuto.

A seguito dei risultati del *WHI* e di altri studi analoghi, la *European Agency of the Evaluation of Medicinal Products (EMA)* nel dicembre 2003 enunciava che:

- il bilancio rischio/beneficio della TOS nel trattamento dei sintomi climaterici che influenzano negativamente la qualità di vita è favorevole. Deve essere però usata la dose minima efficace e per il più breve tempo possibile;

- per la prevenzione dell'osteoporosi e delle fratture la TOS non deve essere considerata farmaco di prima scelta;
- il bilancio rischio/beneficio della TOS in donne sane senza sintomi climaterici è in generale non favorevole.

Anche la *Food and Drug Administration (FDA)* era già andata nella stessa direzione nel gennaio 2003, con l'approvazione dei nuovi foglietti illustrativi per i farmaci contenenti estrogeni con o senza progestinici. Le nuove indicazioni terapeutiche riportate sono le seguenti:

- per il trattamento dei sintomi vasomotori moderati o severi quali le vampate;
- per i sintomi moderati o severi da atrofia vulvare o vaginale (quali secchezza e irritazione). Se rappresentano il solo motivo di trattamento andrebbero considerati i trattamenti locali;
- per la prevenzione dell'osteoporosi postmenopausale. Se rappresenta il solo motivo di trattamento andrebbero considerate le alternative non estrogeniche, e la TOS andrebbe considerata solo per quelle donne con un significativo rischio per osteoporosi che superi i rischi della terapia.

Per quanto riguarda l'atrofia urogenitale è da sottolineare che il 10–25% delle donne che utilizzano la TOS continuano a soffrire degli stessi sintomi senza trarre nessun giovamento dal trattamento sistemico. Questi dati, unitamente ai timori sulla sicurezza della TOS, giustificano il fatto che la terapia sistemica non è di solito raccomandata nelle donne che soffrono soltanto di sintomi legati all'atrofia vaginale.

1.3.4.4 Tibolone

In alternativa alla TOS viene in alcuni casi utilizzato il tibolone che è uno steroide di sintesi il cui effetto ormonale dipende dal suo metabolismo e attivazione nei tessuti periferici, acquisendo caratteristiche estrogeniche, progestiniche e androgeniche. Ha effetti simili agli estrogeni sui sintomi vasomotori e sull'umore senza stimolare l'endometrio ove il suo effetto è prevalentemente progestogenico. Si comporta quindi come una terapia ormonale sostitutiva combinata continua. Nonostante la sua azione positiva su diversi sintomi il tibolone non è però efficace per tutte le donne in menopausa. Come la TOS è efficace per l'osteoporosi e aumenta il rischio di tumore al seno. Non sembra invece aumentare il rischio cardiovascolare.

1.3.4.5 Terapia estrogenica locale o transdermica

Nel trattamento dell'atrofia vaginale la terapia estrogenica vaginale locale è da preferire quando la terapia sistemica non è necessaria per altre ragioni. La terapia locale evita infatti la maggior parte degli eventi avversi sistemici ed è probabilmente anche più efficace per i problemi vaginali.

L'uso appropriato degli estrogeni per via topica non richiede l'aggiunta del progestinico per la protezione endometriale. Una revisione della letteratura del 2009 sugli estrogeni per uso locale ha infatti concluso che in nessuno studio è stata documentata proliferazione endometriale dopo 6–24 mesi di utilizzo^[10]. La letteratura è quindi rassicurante sul fatto che le preparazioni vaginali a base di estrogeni a basso dosaggio siano sicure e non necessitino quindi dell'uso concomitante di progestinici. Non sono però disponibili dati sui trattamenti prolungati per oltre un anno.

Nella pratica clinica si dovrebbe prescrivere la dose efficace più bassa facendo attenzione al fatto che le pazienti non eccedano nell'uso del prodotto scelto rispetto alla frequenza raccomandata di utilizzo, anche se può accadere che una paziente possa aver bisogno di un dosaggio più frequente per ottenere una risposta soddisfacente. I medici devono essere ben consapevoli del fatto che esistono poche evidenze sulla sicurezza di un qualunque prodotto per via vaginale dopo un anno di utilizzo e di conseguenza le pazienti devono essere informate che in presenza di un sanguinamento vaginale inaspettato è necessario eseguire tempestivamente accertamenti appropriati.

Nonostante siano ben noti gli effetti benefici della terapia estrogenica locale nel prevenire l'atrofia vaginale e nel ridurre l'incidenza dei sintomi correlati, tale trattamento è controindicato in alcune donne, come quelle con sanguinamenti vaginali/uterini di natura sconosciuta o in quelle con un noto/sospetto tumore dell'endometrio, e non è un'opzione accettabile per altre che diffidano degli ormoni.

Allo stato attuale, non ci sono linee guida relative alla durata della terapia. L'unica raccomandazione riguarda il fatto che se la terapia viene utilizzata a lungo termine è bene usare un basso dosaggio. Le donne ottengono quasi sempre un sollievo sostanziale dai loro sintomi dopo circa 3 settimane di trattamento, anche se alcune donne hanno bisogno di 4-6 settimane prima che un miglioramento adeguato possa essere documentato^[5].

Sorprendentemente, in letteratura c'è un numero molto basso di dati sull'uso delle preparazioni estrogeniche locali oltre i sei mesi, anche se è ben noto che i sintomi ricompaiono quando la terapia viene interrotta. Questo è legato al fatto che la maggior parte delle preparazioni

impiegate in terapia sono commercializzate con una licenza di 3–6 mesi di uso continuativo^[5]. Inoltre, esistono delle preoccupazioni che un uso ulteriore possa condurre a una patologia endometriale.

Seri eventi avversi sono assolutamente non comuni. Tutte le preparazioni possono, comunque, associarsi a eventi avversi meno severi e possono causare irritazioni vaginali o prurito, perdite vaginali, sanguinamenti vaginali, dolore pelvico, tensione mammaria e parestesie.

Gli effetti potenziali della terapia estrogenica locale come causa di iperplasia endometriale sono già stati discussi. Sulla base di tutti gli studi, non ci sono evidenze di un aumento del rischio di eventi tromboembolici o di aumento della patologia metastatica in donne con tumore al seno che utilizzano le compresse vaginali per il miglioramento della sintomatologia.

L'atrofia vaginale è comunemente il risultato delle terapie di molti tumori ginecologici e di quello della mammella che sono oltretutto tumori sensibili agli ormoni. I carcinomi cervicali a cellule squamose non sono invece responsivi agli ormoni, ma la radioterapia locale può ridurre il numero dei recettori estrogenici e la conseguente risposta alla terapia estrogenica topica. I dati relativi all'uso degli estrogeni vaginali nelle donne con tumori ginecologici ormono-sensibili sono scarsi.

Per le donne con il tumore al seno, le terapie non ormonali sono da preferire anche se possono però risultare inefficaci.

1.4 CONCLUSIONI

L'atrofia vaginale postmenopausale è una causa comune di sintomi fastidiosi causati dalla deficienza estrogenica, ma è scarsamente riconosciuta dai medici e dalle donne

che sono spesso riluttanti a parlarne nel corso della visita medica.

La terapia dovrebbe essere iniziata tempestivamente e prima che si verifichino irrevocabilmente le modificazioni della vagina in senso atrofico.

E' essenziale che gli operatori sanitari intraprendano in modo routinario una discussione aperta e sensibile sul tema della salute urogenitale con le donne in postmenopausa, al fine di riconoscere prontamente l'atrofia sintomatica e di curarla in modo appropriato.

1.5 BIBLIOGRAFIA

1. *Italia in cifre 2012*. Dati ISTAT (Istituto nazionale di statistica) 2012.
2. *Italia in cifre 2011*. Dati ISTAT (Istituto nazionale di statistica) 2011.
3. *Raccomandazioni mediche per la donna in menopausa. Cap. 3 – La Nuova cinquantenne*. A cura dell'Agenzia per i Servizi Sanitari Regionali, settembre 2005.
4. *Raccomandazioni mediche per la donna in menopausa. Cap. 5 – I sintomi*. A cura dell'Agenzia per i Servizi Sanitari Regionali, settembre 2005.
5. Sturdee DW, Panay N et al. *Raccomandazioni per la gestione dell'atrofia vaginale postmenopausale*. International Menopause Society, Ottobre 2010.
6. Genazzani AR, Schneider HPG, Panay N, Nijland EA. *The European Menopause Survey 2005: Women's perceptions on the menopause and postmenopause hormone therapy*. Gynecol Endocrinol 2006;22:369–75.
7. Simon JA, Komi J. *Vulvovaginal atrophy negatively impacts sexual function, psychosocial well-being, and partner relationships*. Poster presented at North American Menopause Association Annual Meeting; October 3–6, 2007, Dallas, Texas

8. *Raccomandazioni mediche per la donna in menopausa. Introduzione.* A cura dell'Agenzia per i Servizi Sanitari Regionali, settembre 2005.
9. *Raccomandazioni mediche per la donna in menopausa. Cap. 2 – Il WHI (The Women's Health Initiative study): dagli studi osservazionali a quelli randomizzati.* A cura dell'Agenzia per i Servizi Sanitari Regionali, settembre 2005.
10. Al-Baghdadi O, Ewies AAA. *Topical estrogen therapy in the management of postmenopausal vaginal atrophy: an up-to-date overview.* Climacteric 2009;12:91–105.

Capitolo 2

Il laser: la luce in medicina

2.1 PREMESSA

Il presente capitolo è un'introduzione sul laser per fornire informazioni a chi desideri conoscere maggiormente e più in dettaglio questo strumento, le sue applicazioni in diversi settori, i principi che sono alla base del suo funzionamento e cosa avviene durante l'interazione tra un fascio laser e il tessuto biologico.

Il laser, sin dalla sua scoperta nel 1960, ha sempre destato un notevole interesse nel mondo scientifico. Durante questi anni si può dire che non ci sia stato campo della scienza e della tecnica che non sia stato influenzato, a volte in maniera profonda, da questa rivoluzionaria invenzione. Questo perché la luce laser ha delle proprietà uniche (coerenza, brillantezza, monocromaticità e unidirezionalità) che la distinguono da tutte le altre sorgenti di radiazione elettromagnetica presenti in natura o precedentemente generata dall'uomo.

2.2 CENNI STORICI

Pur essendo l'acronimo laser (*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*) un sinonimo di tecnologia avanzata e del futuro, fu già Albert Einstein a introdurre nel lontano 1916^[1], per ragioni di puro bilancio energetico, il concetto di emissione stimolata che è alla base del laser.

Solo nel giugno del 1960 però T.H. Maiman annunciava il

funzionamento del primo laser (il laser a rubino)^[2]. Pochi mesi dopo P.P. Sorokin e M.J. Stevenson presentarono il funzionamento dei laser a Uranio e Samario^[3] (entrambi non più usati) e nel dicembre di quello stesso anno A. Javan e i suoi collaboratori annunciarono la scoperta del laser a Elio-Neon che fu il primo laser a gas e il primo laser a emissione continua^[4]. I risultati ottenuti nella seconda metà del 1960 suscitarono una notevole impressione nel mondo scientifico cosicché molti altri ricercatori iniziarono a lavorare in questo campo. Le aspettative non furono deluse: i primi laser a semiconduttore sono del 1962^[5], il laser a Neodimio^[6], quello a CO₂^[7] e quello ad Argon^[8] sono tutti del 1964.

Le prime applicazioni del laser in campo medico riguardano patologie oculistiche, mentre nel 1962 L. Goldman lo impiega in dermatologia^[9] (in particolare Goldman seppe riconoscere le potenzialità mini invasive della luce laser in ambito chirurgico). G.J. Jako utilizzò un laser a CO₂ con microscopio per applicazioni chirurgiche sulle corde vocali^[10]. Negli anni che seguirono nuove scoperte si sono succedute con un ritmo incalzante permettendo di passare dalla realizzazione di pochi prototipi all'industrializzazione dei dispositivi che sono oggi largamente diffusi, anche grazie alla vastità dei possibili campi di applicazione. Una particolare nota da ricordare è il lavoro di Anderson e Parrish che introducendo nel 1983 il concetto della fototermodisi selettiva dettero inizio allo sviluppo, nei primi anni '90, dei laser pulsati e dei sistemi di scansione laser^[11].

2.3 PRINCIPIO DI FUNZIONAMENTO

Come indica lo stesso nome (acronimo di *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*) il laser è un amplificatore di luce che sfrutta il fenomeno dell'emissione

stimolata di radiazioni. Si osservi che in questo caso il termine “luce” assume un significato più vasto di quello usuale relativo al solo spettro visibile; per “luce” si intende la radiazione elettromagnetica dall’infrarosso all’ultravioletto.

Strutturalmente le parti essenziali di un laser sono tre: la cavità risonante, il mezzo attivo, il sistema di pompaggio (figura 2.1).

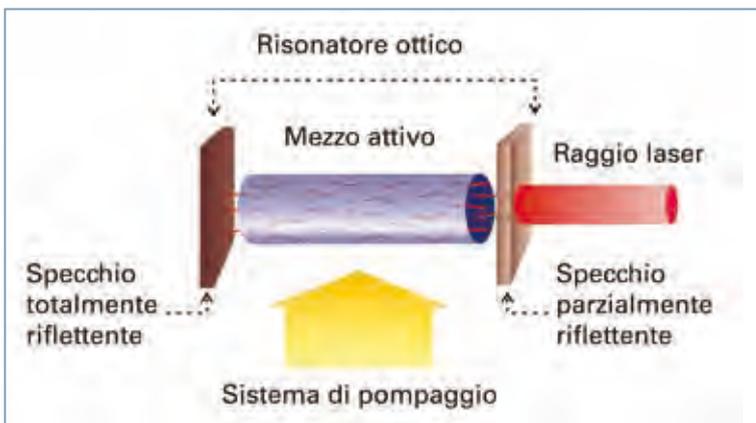


Fig. 2.1 - Schema generale di un dispositivo laser.

Il mezzo attivo è l'elemento in cui si produce l'amplificazione della luce. Mediante il sistema di pompaggio viene fornita energia al mezzo attivo che si porta nelle condizioni di avere un gran numero di particelle (atomi, molecole, ioni) in uno o più stati eccitati. Dallo stato eccitato la singola particella, per i principi generali della fisica, tende a ritornare nello stato non eccitato emettendo un quanto di energia, cioè un fotone. In condizioni opportune si può “stimolare” questo fenomeno di emissione che permette di amplificare la radiazione incidente originaria. Nel mezzo attivo l'emissione stimolata può avvenire solo a una determinata lunghezza

d'onda che è quella caratteristica dell'assorbimento e della diseccitazione degli atomi (o molecole o ioni) che lo costituiscono. La radiazione viene retroazionata grazie alla cavità risonante nella quale è posto il mezzo attivo. Il risonatore ottico è costituito da due specchi rigorosamente paralleli di cui uno è totalmente riflettente mentre l'altro lo è parzialmente. Solo la radiazione che si propaga perpendicolarmente agli specchi viene amplificata. Per questo la luce laser, che è quella che esce dallo specchio parzialmente riflettente, possiede un'elevata direzionalità. L'elevata direzionalità del fascio laser ha permesso, per esempio, di inviare una radiazione laser sulla luna e di ricevere la porzione riflessa sulla terra.

2.4 CARATTERISTICHE DELLA LUCE LASER

Oltre alla sopramenzionata *unidirezionalità* i fasci laser sono caratterizzati da altre proprietà che li differenziano da qualsiasi altra radiazione elettromagnetica: *monocromaticità*, *coerenza* e *brillanza*. Di seguito esamineremo singolarmente queste proprietà fondamentali:

- *Monocromaticità*: significa che il fascio laser è costituito da onde elettromagnetiche tutte alla stessa frequenza. Questo è vero solo in teoria, mentre nella pratica non è realizzabile. In realtà si ha un fascio costituito da varie lunghezze d'onda molto vicine tra loro, ovvero situate in una banda spettrale estremamente ristretta; per questo è lecito parlare di monocromaticità soprattutto in confronto alle radiazioni ottenibili con qualsiasi altra sorgente. Per comprendere le proprietà interattive del laser con i tessuti biologici si può considerare la radiazione come assolutamente monocromatica.

- *Coerenza*: proprietà strettamente connessa al fenomeno dell'emissione stimolata, per cui le singole emissioni avvengono in fase tra loro. Si distingue in coerenza spaziale e temporale: spaziale in quanto i fronti d'onda mantengono costante nel tempo la loro forma, temporale perché la differenza di fase dell'onda rimane costante qualunque sia il tempo preso in considerazione, concetto questo strettamente legato a quello di monocromaticità.
- *Unidirezionalità*: proprietà che, come visto nel paragrafo precedente, deriva dalla struttura della cavità risonante che permette che si propaghino e fuoriescano solo i fasci che si presentano esattamente perpendicolari alla superficie degli specchi paralleli che la costituiscono. La unidirezionalità spiega inoltre perché il fascio di luce laser possieda una divergenza angolare particolarmente limitata.
- *Brillanza*: è il parametro che contraddistingue più profondamente la radiazione laser e ne giustifica molte applicazioni. La brillanza di una sorgente luminosa è data dalla potenza emessa per unità di superficie e per unità di angolo solido. I laser possiedono una brillanza molto più elevata (di un fattore che può di solito andare da mille a un milione) di quelle delle più intense sorgenti convenzionali. Ciò si verifica non tanto per l'elevato valore della potenza emessa quanto per il piccolo valore della divergenza del fascio. L'elevata brillanza permette di raggiungere un'enorme densità di energia tale da sublimare o fondere i metalli più duri o i materiali refrattari.

Queste caratteristiche evidenziano le differenze tra la luce emessa dal sole o da una normale lampada per illuminazione domestica e la luce laser: nel primo caso i fotoni vengono

emessi disordinatamente e possono essere paragonati alle persone che escono dallo stadio o dal cinema; nel secondo caso del laser invece i fotoni sono tutti ordinati come un plotone di automi tutti rigorosamente uguali che marciano rigorosamente allineati.

2.5 TIPI DI LASER

Dopo la scoperta dei primi laser questo settore si è sviluppato rapidamente e i tipi di laser attualmente disponibili sono in numero così elevato che una loro descrizione, sia pure in termini sommari, richiederebbe molto più spazio di quello consentito da questo lavoro. Lo stimolo che ha portato allo sviluppo di questo settore segue sostanzialmente due esigenze: la ricerca di nuove lunghezze d'onda congiuntamente alla gestione dell'emissione nel tempo (forma d'onda del laser), e il miglioramento del rendimento in considerazione al costo di produzione.

Possiamo distinguere i vari tipi di laser a seconda del mezzo attivo impiegato. Sono stati sviluppati laser allo stato solido (neodimio, erbio, olmio, ecc), a gas (CO_2 e HeNe), a stato liquido (Dye o colorante), a semiconduttore (diodo), ecc.

Ciò che forse più contraddistingue i numerosi laser esistenti è l'estrema variabilità dei parametri caratteristici. Così, in termini di lunghezza d'onda si va da laser nel lontano ultravioletto con lunghezze d'onda maggiori di 100 nm, fino a laser a onde millimetriche; le potenze variano dai mW ai MW; anche le forme d'onda sono molteplici e comportano applicazioni molto diverse tra loro. Un esempio per tutti lo possiamo vedere col laser a Neodimio (Nd:YAG). Esistono laser con emissione in continua per applicazioni chirurgiche ad esempio. Ci sono poi laser Nd:YAG detti "a impulso lungo" (con lunghezza dell'impulso di decine-centinaia

di ms) che vengono impiegati per l'epilazione o per i trattamenti vascolari. I laser Nd:YAG pulsati con impulsi di qualche ms vengono impiegati nelle applicazioni dentali. Quelli con impulsi di centinaia di μ s e una forma chiamata "Gated-Pulse" vengono utilizzati nella laserlipolisi. Infine i laser Nd:YAG *Q-Switched* (con impulsi lunghi qualche decina di ns) servono per la rimozione dei tatuaggi scuri.

Laser	Mezzo Attivo	Emissione	Applicazioni	Diffusione
Alessandrite	Stato solido	Pulsata e QS	DERMATOLOGIA: epilazione, tatuaggi, lesioni pigmentate, ringiovanimento	Elevata
CO ₂	Gas	Pulsata e continua	Tutta la chirurgia ablativa in varie branche della medicina (DENTALE, DERMATOLOGIA, GINECOLOGIA, ORL, V ² LR, ecc), trattamenti frazionati.	Elevata
Colorante (Dye-laser)	Liquido	Pulsata	DERMATOLOGIA: lesioni vascolari superficiali anche di grossa entità, psoriasi.	Discreta
Diodo (GaAs, GaAlAs)	Semiconduttore	Continua o pseudocontinua	DERMATOLOGIA: depilazione. DENTALE: chirurgia, sbiancamento. FLEBOLOGIA.	Elevata
Eccimeri	Gas	Pulsata	DERMATOLOGIA: psoriasi, vitiligine. OFTALMOLOGIA.	Limitata
Erbio (Er:YAG o altro)	Stato solido	Pulsata	DERMATOLOGIA: chirurgia ablativa superficiale. DENTALE: conservativa (trattamento delle carie).	Discreta
KTP/532	Stato solido	Pulsata, QS e Continua	DERMATOLOGIA: lesioni superficiali vascolari, tatuaggi ringiovanimento. DENTALE: sbiancamento, parodontologia, endodonzia, chirurgia.	Discreta
Neodimio (Nd:YAG o altro)	Stato solido	Pulsata e QS	DERMATOLOGIA: depilazione, lesioni vascolari. DENTALE: endodonzia, parodontologia, implantologia, chirurgia, sbiancamento.	Elevata
Olmio (Ho:YAG)	Stato solido	Pulsata	UROLOGIA. DERMATOLOGIA: lesioni vascolari.	Media
Rubino	Stato solido	Pulsata e QS	DERMATOLOGIA: depilazione (in calo), lesioni pigmentate.	Scarsa

Tab. 2.1 - Principali caratteristiche dei laser maggiormente utilizzati in medicina.

2.5.1 Laser a CO₂

Il laser ad anidride carbonica è uno tra i più potenti (sono state ottenute potenze di uscita fino a 80 kW) e più efficienti (in termini di rapporto tra potenza ottica d'uscita e corrispondente potenza elettrica) finora costruiti. E' un laser a gas che utilizza una miscela contenente anidride carbonica, elio e azoto in proporzioni opportune. L'elemento attivo è il CO₂ mentre gli altri gas sono aggiunti per migliorarne l'efficienza. Il pompaggio è ottenuto con una scarica elettrica (pompaggio elettrico) come in quasi tutti i laser a gas.

Il laser ad anidride carbonica può funzionare sia con emissione continua che a impulsi. In continua e a bassa potenza si hanno per esempio applicazioni in medicina, mentre sempre in continua ma ad alta potenza è molto frequente l'impiego nelle lavorazioni meccaniche.

La sua lunghezza d'onda è nel lontano infrarosso (10600 nm) e ha un'altissima affinità con l'acqua.

2.6 INTERAZIONE LASER E TESSUTI BIOLOGICI

Le interazioni tra il laser e i tessuti biologici sono state tra i primi argomenti affrontati dai ricercatori impegnati nello sviluppo delle applicazioni della nuova forma di energia. Più di quarant'anni fa il laser a CO₂ fu introdotto nella pratica chirurgica come strumento per incidere e asportare i tessuti. In seguito l'uso delle sorgenti laser è andato a ricoprire un ruolo sempre più importante in medicina principalmente grazie ai seguenti motivi :

- la sempre maggiore comprensione dei fenomeni di interazione tra tessuti biologici e radiazione elettromagnetica, e degli effetti associati a tali interazioni.

Questo ha permesso di sfruttare meglio la potenza e le potenzialità dei laser sia in ambito medico che chirurgico;

- la disponibilità di nuovi sistemi laser con emissioni a lunghezze d'onda fortemente assorbite dalle specie molecolari contenute nei tessuti (principalmente melanina, sangue e acqua). È infatti la lunghezza d'onda della luce laser che determina il tipo di interazione che si manifesta quando il fascio colpisce un tessuto biologico;
- la realizzazione di sistemi in grado di rilasciare energia in modo controllato secondo una ben definita forma d'onda. Questo ha permesso di "controllare" al meglio l'interazione tra laser e tessuto per ottenere i risultati terapeutici desiderati.

Attualmente le branche della medicina che utilizzano normalmente il laser sono molteplici: dermatologia, ginecologia, otorinolaringoiatria, oncologia, odontostomatologia, urologia, oftalmologia, medicina estetica e numerose altre; inoltre vengono sempre più studiate e impiegate le proprietà biostimolanti della radiazione laser.

L'interpretazione del meccanismo d'interazione tra la radiazione laser e il tessuto biologico, è estremamente complessa per la mancata possibilità di valutare tutte le variabili in gioco come il tipo di tessuto, la sua composizione a livello microscopico, la sua omogeneità, le sue caratteristiche termico-conduttive. È quindi necessario procedere per approssimazioni successive in modo da poter prevedere in generale il risultato prodotto dall'irraggiamento laser. Queste approssimazioni non sono determinate solamente dalle caratteristiche del tessuto ma anche da quelle della radiazione laser. Ogni fascio laser trasporta energia che può presentarsi in forme e modi

diversi che, spesso, possono essere selezionati dall'utente. E' bene sottolineare subito che non è assolutamente vero che a una maggiore energia disponibile, o assorbita dal tessuto, corrisponde un maggiore effetto prodotto. E' importante il modo in cui quest'energia viene fornita al tessuto biologico, in particolare in quali tempi e su quale superficie. In altre parole le unità di misura che quantificano le radiazioni elettromagnetiche sono molto importanti per capire l'interazione laser-tessuto. A questo proposito si parla di:

- fluenza o dose, che rappresenta la quantità di energia rilasciata per unità di area (J/cm^2),
- di potenza che è l'intensità di rilascio dell'energia (W),
- di irradianza che è la potenza rilasciata per unità di superficie (W/cm^2).

2.6.1 Le proprietà ottiche dei tessuti

La propagazione della luce laser in un tessuto è una questione che interessa molte applicazioni mediche. L'interazione tra un'onda elettromagnetica e un mezzo biologico dipende sia dalla lunghezza d'onda che dalle proprietà ottiche del mezzo stesso. Nonostante la complessità strutturale e le differenziazioni morfologiche, in prima approssimazione i tessuti organici possono essere considerati come mezzi omogenei nei quali la propagazione della radiazione luminosa è descritta tramite proprietà ottiche fondamentali. Quando un raggio laser è diretto verso uno strato tissutale è possibile osservare quattro diversi tipi di interazione (figura 2.2):

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



Fig. 2.2 – Rappresentazione schematica dei fenomeni ottici che hanno luogo nell'interazione fra radiazione luminosa e tessuto.

La probabilità relativa dei quattro eventi dipende dalle proprietà ottiche del tessuto. I fenomeni di riflessione e di diffusione sono causati dall'eterogeneità del mezzo che è strutturalmente non omogeneo. Tutti gli effetti prodotti dalla radiazione laser su un tessuto biologico si basano sul concetto ovvio che solo la parte d'energia che viene assorbita dal tessuto stesso è in grado di essere utilizzata per l'applicazione medica. In altre parole affinché l'energia luminosa del laser causi effetti biologici, è necessario che sia assorbita dal tessuto (o da un suo costituente) e

trasformata in altre forme di energia: termica, chimica o meccanica.

Per quel che riguarda il grado di assorbimento di una radiazione, che è causato dalla non omogeneità chimica dei tessuti biologici, si ha una forte dipendenza dalla lunghezza d'onda (figura 2.3).

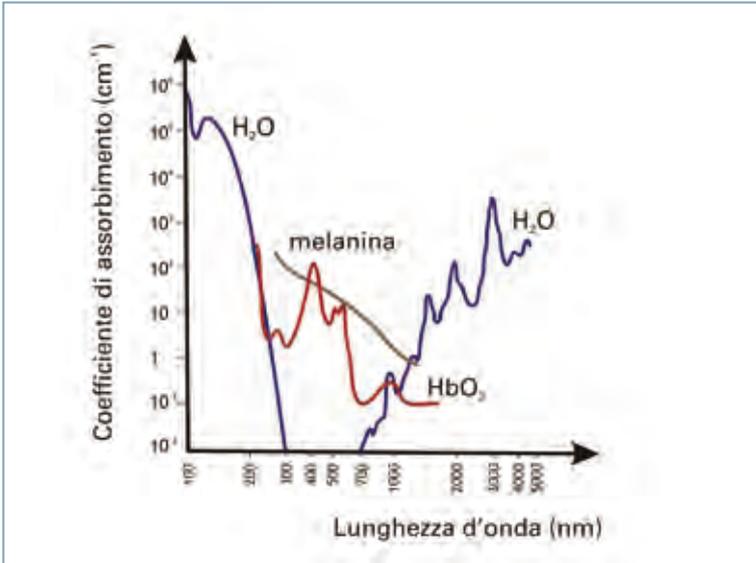


Fig. 2.3 – Spettro di assorbimento dei principali cromofori della cute.

Un altro fattore determinante per caratterizzare la luce laser è la forma dell'onda nel tempo. Come è stato accennato nel paragrafo precedente le modalità di emissione dei laser possono essere (figura 2.4):

- continua (CW),
- pseudocontinua,
- pulsata,
- *Q-switched*.

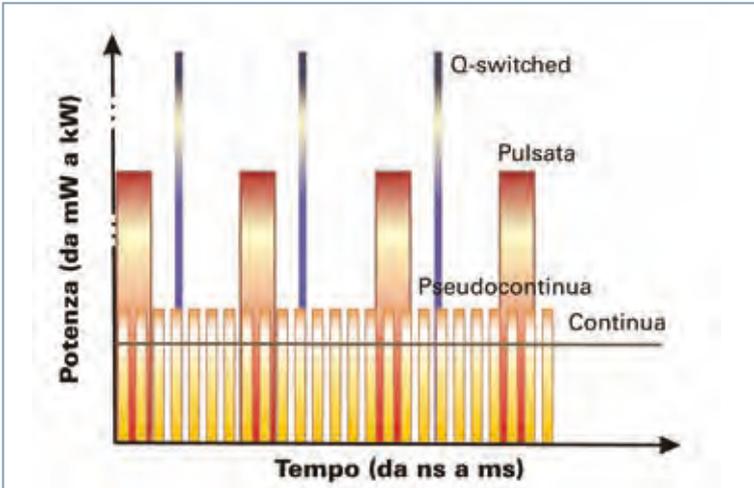


Fig. 2.4 – Rappresentazione delle diverse modalità di emissione di un laser.

Lo studio e la ricerca, sia dal punto di vista tecnico che clinico, ha consentito di sviluppare forme d'onda (pulsate) specifiche per determinate applicazioni. Regolando infatti la forma d'onda di un impulso è possibile controllare i differenti effetti prodotti dalla luce laser sui tessuti come vaporizzazione, coagulazione, diffusione termica, ecc.

2.7 CENNI SULL'IMPIEGO DEL LASER IN DERMATOLOGIA

Tra i settori applicativi del laser in medicina che hanno avuto più impulso c'è indubbiamente la dermatologia. La pelle è lo schermo naturale del corpo umano nei confronti dell'ambiente, radiazioni solari comprese, e pertanto è particolarmente organizzata per interagire con le onde luminose. E' sicuramente il tessuto biologico che ha offerto le maggiori occasioni di studio e sviluppo di metodi di cura per molte patologie, con laser di vari tipi.

Come è stato illustrato nel precedente paragrafo, quando un tessuto biologico viene irraggiato con un laser è possibile produrre diversi tipi di effetti che dipendono da un insieme di molteplici fattori. Alcuni di questi non possono essere controllati come, ad esempio, le caratteristiche ottiche del tessuto, la sua conduttività termica e la presenza di fluidi in circolazione. Su altri si può invece intervenire, come la potenza e la lunghezza d'onda, la durata d'impulso, la frequenza e certi aspetti del sistema di trasmissione del laser.

La maggior parte dei laser causa specifici effetti termici sul tessuto agendo sulla trasformazione dell'energia luminosa in calore. A seconda della temperatura raggiunta in un certo volume, l'energia termica prodotta è capace di vaporizzare, carbonizzare, coagulare, stimolare processi o semplicemente "scaldare" (figura 2.5).



Fig. 2.5 – Localizzazione degli effetti termici nel tessuto biologico.

E' importante sottolineare nuovamente che quando si parla di interazione tra una radiazione elettromagnetica e il tessuto non tutte le lunghezze d'onda subiscono il medesimo assorbimento attraversando il corpo umano. Tutti noi ben sappiamo che lunghezze d'onda particolari, come i raggi X, sono capaci di attraversare parti del corpo umano senza essere assorbite, altre invece lo sono in pochi micron, come ad esempio la radiazione emessa da un laser Er:YAG. L'assorbimento non dipende solo dalla lunghezza d'onda ma anche dalla composizione del mezzo che viene irraggiato. Ciò che ci deve guidare in analisi di questo genere è la comprensione che la cute assorbe differenti lunghezze d'onda in modo differente, perché nella cute esistono costituenti che assorbono in modo diverso una radiazione (cromofori). Nella pelle i cromofori che sono maggiormente responsabili dell'assorbimento della luce sono l'emoglobina (sangue), la melanina e l'acqua. Nella figura 2.3 si sono viste le curve di assorbimento dell'ossiemoglobina, dell'emoglobina, dell'acqua e della melanina: più alta è la curva e più alto è l'assorbimento e più bassa è la penetrazione nella cute.

In base alla lunghezza d'onda emessa e tenendo presente la curva di assorbimento dei principali cromofori della cute, vediamo di seguito le applicazioni dei più diffusi laser dermatologici.

2.7.1 Laser a CO₂ in dermatologia

Il laser a CO₂ fu sviluppato da Patel nel 1964^[7] e, da molti anni, è il laser maggiormente utilizzato in medicina. Le sue caratteristiche tecniche sono state brevemente presentate nei paragrafi precedenti. Come più volte detto questo tipo di laser emette a una lunghezza d'onda facilmente assorbita dall'acqua che è presente nella maggior parte dei tessuti

umani come la cute e le mucose. Gli effetti prodotti sono di tipo fototermico. Lo sviluppo negli ultimi anni di sistemi di scansione frazionati in grado di effettuare trattamenti di fotoringiovanimento mini-invasivi, hanno enormemente aumentato la diffusione di questo tipo di laser in tutto il mondo. Nei sistemi più evoluti e all'avanguardia è possibile selezionare i parametri di emissione in modo così raffinato da esercitare un controllo puntuale dell'interazione tra laser e tessuto in base allo specifico effetto che si vuole ottenere. Il sistema è quindi in grado di differenziare il tipo di impulso laser a seconda che si voglia incidere la cute o una mucosa, o se si vuole avere un effetto di coagulazione in presenza di tessuti più vascolarizzati, o se si vuole produrre un danno termico estremamente superficiale o se, infine, il trattamento richiede invece di effettuare una rapida vaporizzazione superficiale per poi diffondere calore nei tessuti sottostanti per stimolarli.

2.7.2 Laser a Neodimio (Nd:YAG) in dermatologia

Il mezzo attivo del laser è costituito da un cristallo di granato di alluminio e ittrio (YAG) drogato con ioni di neodimio (Nd). L'emissione principale avviene alla lunghezza d'onda di 1064nm. La sua radiazione viene assorbita dalla melanina ma non troppo (soprattutto rispetto ad altri laser), viene assorbita dal sangue mentre non viene particolarmente assorbita dall'acqua. Queste caratteristiche consentono alla radiazione del laser a Nd:YAG di penetrare abbastanza in profondità nella cute (visto lo scarso assorbimento da parte dell'acqua e quello non eccessivo da parte della melanina). In questo modo è possibile, per esempio, andare a trattare i capillari superficiali, in particolare quelli degli arti inferiori che si trovano a una maggiore profondità nella cute. Un'altra applicazione molto diffusa è quella dell'epilazione,

in special modo nel caso di pelli scure. L'assorbimento da parte della melanina è infatti sufficiente per essere efficace nella rimozione dei peli; d'altra parte non è però eccessivo per poter danneggiare la cute. Nell'epilazione si verifica infatti una competizione tra l'assorbimento (non voluto) da parte della melanina contenuta nella pelle e l'assorbimento (voluto) da parte della melanina contenuta nel pelo. Per comprendere meglio questo meccanismo d'azione ci si deve riferire, come per molte altre applicazioni del laser in dermatologia, alla teoria della *foto-termolisi selettiva* introdotta da Anderson e Parrish nel 1983, secondo la quale è possibile produrre un danno termico selettivo scegliendo in modo opportuno le grandezze caratteristiche dell'emissione laser, ovvero: la lunghezza d'onda, la durata dell'impulso e la fluenza.

Visto che la sua radiazione viene assorbita dalla melanina, ma non dall'acqua, il laser a Nd:YAG (in modalità di emissione *Q-Switched*) è indicato nella rimozione di molti tatuaggi ornamentali, medici e post-traumatici, senza il rischio di produrre cicatrici indesiderate.

2.7.3 Laser ad Alessandrite in dermatologia

Questo tipo di laser emette a una lunghezza d'onda di 755nm (tra il rosso e il vicino infrarosso) che è bene assorbita dalla melanina. Le sue applicazioni sono per lo più limitate all'epilazione, alle lesioni pigmentate e al trattamento dei tatuaggi. Nel primo caso vengono utilizzati apparecchi a impulso lungo in cui la durata degli impulsi arriva a qualche decina di ms. Visto il forte assorbimento da parte della melanina, che è presente non solo nei peli ma anche nella cute, è necessario porre molta attenzione nel trattamento di pelli scure.

I sistemi Q-switched, con impulsi di ampiezza minore di 100ns, vengono utilizzati per la rimozione dei tatuaggi.

2.7.4 Laser a colorante (dye laser) in dermatologia

Il mezzo attivo è costituito da una soluzione liquida contenente un particolare pigmento (ad es. rodamina, cumarina, fluorescina, ecc.). Ognuno di questi pigmenti ha un proprio caratteristico spettro di assorbimento e di fluorescenza che consente di realizzare laser con emissioni che vanno dall'ultravioletto al vicino infrarosso.

In dermatologia il dye laser viene impiegato per il trattamento delle anomalie vascolari come gli angiomi piani, i Port-Wine Stain e le teleangectasie mediante il processo di fototermolisi selettiva. Le lunghezze d'onda più frequentemente usate sono a 590, 595 e 600nm; le lunghezze d'impulso variano da 450 μ s a 40ms della nuova generazione di laser a impulso lungo.

2.7.5 Laser a Erbio (Er:YAG) in dermatologia

Il laser a erbio opera a una lunghezza d'onda di 2940 nm. Il mezzo attivo di questo laser è di solito un cristallo di YAG drogato con erbio. L'assorbimento di questo laser da parte dell'acqua è il più alto tra tutti i laser disponibili, producendo ablazione del tessuto di circa 15-20 μ m provocando uno strato di danno termico sottilissimo (\approx 5 μ m). Date le sue caratteristiche il laser a erbio viene utilizzato nel *peeling* cutaneo in casi di *soft resurfacing* poiché consente di rimuovere un sottile strato di superficie cutanea danneggiata o di cellule morte, riducendo così rughe ed esiti cicatriziali dell'acne. A causa della bassa penetrazione il laser a erbio non ha però, in pratica, capacità emostatiche

a meno che non si allunghi la durata dell'impulso. Anche in questo caso comunque la diffusione termica che si può ottenere con questa lunghezza d'onda è limitata soprattutto se paragonata all'azione di un laser a CO₂.

2.8 CENNI SULLE APPLICAZIONI DEL LASER IN ALTRE BRANCHE DELLA MEDICINA

2.8.1 Oftalmologia

Le applicazioni in oftalmologia risalgono ai primi tempi dello sviluppo delle apparecchiature laser. I campi di applicazione sono vari e tra questi occorre menzionare: la terapia del distacco della retina, consistente nell'inviare impulsi di energia controllata sulla retina in un certo numero di punti per potere provocare l'adesione e quindi il processo di risanamento. Il glaucoma viene curato mediante la creazione di canali ottenuti da piccoli fori praticati con laser. Con il laser a Nd:YAG vengono compiuti interventi su membrane fibrose nel campo pupillare; un solo impulso laser consente di sezionare la membrana e aprire completamente il foro pupillare. Infine è opportuno citare anche una molto diffusa applicazione del laser a eccimeri per il modellamento corneale che consenta una correzione di difetti visivi quali ad esempio le miopie; la tecnica consiste nella vaporizzazione selettiva del tessuto corneale in modo che si crei una geometria nuova che per meccanismi di rifrazione corregga il difetto presente.

2.8.2 Ginecologia

In campo ginecologico il laser a CO₂, viene utilizzato per vaporizzazioni di lesioni superficiali su organi genitali con la

possibilità di asportare uno spessore di mucosa deciso dal medico e in zone di estensione anche ampia, evidenziata da particolari sistemi di coloritura differenziata tra tessuto sano e tessuto patologico; un'applicazione diffusissima del laser a CO₂, è l'eliminazione dei condilomi per taglio o vaporizzazione laser. Le affezioni della cervice dell'utero di tipo CN possono essere curate asportando una porzione di tessuto mediante taglio con laser a CO₂ con un'operazione che viene chiamata di conizzazione, per la forma che il volume di tessuto asportato viene usualmente ad assumere. In campo ginecologico si è ormai affermata la tecnica per intervento di laparoscopia su affezioni delle ovaie; in questo caso possono essere usati laser a CO₂ o laser a Nd:YAG portato in fibra.

2.8.3 Otorinolaringoiatria

In ORL il laser ha ormai un'ampia diffusione soprattutto in ambito ospedaliero. Le diverse applicazioni si differenziano in base allo specifico settore della branca.

Nel campo della microchirurgia laringea il laser a CO₂ è riconosciuto come il *gold standard* per la chirurgia tumorale e non.

Per quanto riguarda l'orecchio esterno può essere utilizzato per l'otoplastica in sostituzione del bisturi. Sull'orecchio interno e medio invece il laser (a CO₂, a diodo e altri) ha un certo successo per interventi di stapedotomia (foro della platina della staffa per otosclerosi) e miringotomia (foro del timpano per otite catarrale cronica).

Per la chirurgia della bocca il laser a CO₂ è riconosciuto una metodica minivasiva molto efficace. Il laser a CO₂ viene anche impiegato nella chirurgia del russamento con una metodica chiamata LAUP (*Laser Assisted*

Uvulopalatoplasty). La tonsillotomia (riduzione tonsillare) è una tecnica riconosciuta ed utilizzata in pediatria per bambini da 1 a 6 anni, ma anche negli adulti è praticata con successo utilizzando il laser a CO₂, a diodi o KTP che riducono il dolore.

Nella chirurgia esterna del naso si ottengono ottimi risultati nel trattamento del Rinofima. Laser, principalmente a diodi, Nd:YAG e KTP, vengono impiegati nella chirurgia endoscopica dei turbinati.

2.8.4 Urologia

I continui progressi dei laser chirurgici con fibre ottiche, uniti alla ormai ampia diffusione di strumenti endoscopici miniaturizzati capaci di penetrare dove una mano o un bisturi non potrebbero mai arrivare, fanno oggi della chirurgia laser il miglior alleato per l'urologo e per lo sviluppo dell'endourologia. In special modo i laser a olmio e tullio, offrono performance elevate a fronte di minori problemi legati a possibili emorragie intraoperatorie e ridotti tempi di degenza e cateterizzazione dei pazienti, rendendo gli interventi endoscopici più sicuri e meno invasivi rispetto alle tradizionali tecniche chirurgiche e agli interventi a cielo aperto. È fin dagli anni '80 che il laser viene utilizzato per la cura dell'IPB (Ipertrofia Prostatica Benigna): dopo diverse evoluzioni delle sorgenti laser impiegate e delle tecniche operatorie sperimentate, oggi il laser a olmio, e il più recente laser a tullio di ultima generazione, sono le tecnologie più evolute e performanti per gli interventi endoscopici di prostatectomia. Anche nelle terapie chirurgiche per i calcoli delle vie urinarie lo sviluppo dei laser a olmio offre alternative più sicure e mini invasive alle tecniche tradizionali di litotrissia. Il laser è un ottimo strumento chirurgico ampiamente utilizzato in chirurgia

oncologica. In urologia diversi tipi di laser (principalmente Ho:YAG, Tm:YAG e Thu:YAG) possono essere impiegati per l'escissione di tumori dell'uretra, della vescica, dell'uretere e dei reni.

2.8.5 Odontostomatologia

In campo odontoiatrico vengono impiegate diverse tipologie di laser per una varietà di applicazioni che vanno dall'eliminazione della carie, alla decontaminazione delle tasche parodontali, allo sbiancamento, alla chirurgia della mucosa orale, ecc. I più diffusi sistemi laser utilizzati in questo settore sono:

- il laser a CO₂, che ha una lunghezza d'onda di 10.600 nm, viene principalmente impiegato in chirurgia orale (rimozione di frenuli, taglio di porzione di gengiva, asportazione di piccoli tumori della mucosa o asportazione di ghiandole salivari patologiche, vaporizzazione di affezioni della mucosa quali la leucoplachia, ecc.)
- il laser a Er:YAG, che ha una lunghezza d'onda di 2940 nm, viene principalmente utilizzato in conservativa (rimozione delle carie) oltre ad avere anche applicazioni in chirurgia orale.
- il laser a Nd:YAG che ha una lunghezza d'onda di 1064 nm. Grazie alle sue eccellenti proprietà decontaminanti ha importanti impieghi in Endodonzia (trattamenti canalari) e in Parodontologia (trattamenti delle tasche parodontali);
- il laser KTP, che ha una lunghezza d'onda di 532 nm ha numerosi impieghi in molti settori dallo sbiancamento dentale (efficace anche nei casi di colorazioni intrinseche

dei denti come ad esempio le macchie da tetracicline) alla chirurgia orale, all'endodonzia e alla parodontologia;

- il laser a diodo, con una lunghezza d'onda tra 810 e 980 nm, è molto diffuso visto che esistono sistemi a costo contenuto anche se non sempre con caratteristiche opportune. La principale applicazione è in chirurgia orale ma viene impiegato anche per lo sbiancamento (solo colorazioni estrinseche del dente dovute a caffè, fumo, ecc.), in parodontologia ed endodonzia.

2.8.6 Oncologia

L'utilizzazione di sistemi chirurgici a laser consente di intervenire su tumori con una minima propagazione di cellule tumorali; inoltre, per tumori particolarmente irrorati, l'utilizzo del laser chirurgico a CO₂ leggermente defocalizzato consente di vaporizzare per passaggi successivi la massa con un'emostasi contemporanea dei vasi fino a un diametro di circa 500µm.

Per quanto riguarda masse tumorali di piccole dimensioni, metastasi, linfonodi patologici, è stata sviluppata una tecnica che consente di creare una ipertermia (surriscaldamento) localizzato delle cellule tumorali, con conseguente denaturazione del tessuto biologico. Utilizzando una guida ecografica, si introduce uno speciale ago fino alla massa da distruggere. Al suo interno viene introdotta una fibra ottica che porta radiazioni laser di una sorgente a Nd:YAG. La luce del laser è assorbita dai tessuti biologici che aumentano la loro temperatura e si danneggiano irreversibilmente.

In campo otorinolaringoiatrico sono stati messi a punto metodi di ablazione delle corde vocali mediante laser a CO₂, con impulsi a lenta cadenza ma ad altissima potenza di picco, così da creare un danno trascurabile ai tessuti sani circostanti la zona da distruggere.

2.8.7 Terapia di aritmie cardiache

Mediante ablazione con luce laser, portato all'interno della cavità cardiaca attraverso fibre ottiche introdotte utilizzando opportuni cateteri, si ha la possibilità di interrompere dei fasci di conduzione elettrica all'interno del cuore con la conseguenza di evitare fenomeni di aritmia.

2.8.8 Biostimolazione

Con meccanismi non ancora completamente compresi alla luce delle attuali conoscenze, la fotostimolazione con luce laser induce effetti terapeutici in affezioni quali reumatismi e artriti reumatoidi, esiti da traumi, stati edematosi, circolazione periferica insufficiente, piaghe da decubito, ulcere varicose. La statistica clinica ha fornito casistiche positive su base di sperimentazione su molte migliaia di casi.

I dati obiettivi, finora documentati sono un aumento del drenaggio linfatico a seguito della azione di biostimolazione e la graduale attenuazione del dolore sentito dal paziente per la patologia sotto terapia. Una nota particolare riguarda la terapia chiamata HILT® (*High Intensity Laser Therapy*) dove viene impiegato uno speciale laser a Nd:YAG in grado di emettere impulsi con alta potenza di picco in grado di trattare le patologie dolorose dell'apparato osteo-muscolo-tendineo, da quelle superficiali fino alle più profonde.

2.9 CENNI SULL'IMPIEGO DEL LASER PER LA CONSERVAZIONE DI OPERE D'ARTE

Per la conservazione il laser, con densità di potenza opportune, può venire usato per la pulitura della superficie di opere lapidee e bronzee. In questa applicazione si utilizza

l'energia laser focalizzata per vaporizzare uno strato sottile di materiale impregnato di sostanze estranee o trasformato nella sua composizione chimica per azione di agenti esterni.

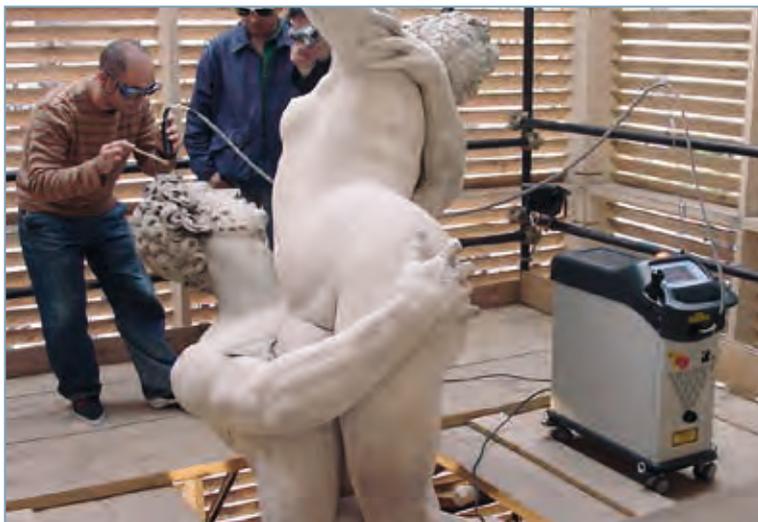


Fig. 2.6 - Intervento di pulizia e restauro del *Ratto delle Sabine* del Giambologna (Loggia dei Lanzi – Firenze) effettuato nel 2001 utilizzando la tecnologia laser.

2.10 BIBLIOGRAFIA

1. Einstein A. *Zur Quantentheorie der Strahlung*. Physikalische Gesellschaft Zürich 1916;18:47– 62. The same paper was published on 15 March 1917, *Physikalische Zeitschrift* 1917;18:121–128.
2. Maiman TH. *Stimulated optical radiation in ruby*. *Nature* 1960;187:493.
3. Sorokin PP, Stevenson MJ. *Stimulated infrared emission from trivalent uranium*. *Phys. Rev. Lett.*, vol. 5, pp. 557–559, December 1960.
4. Javan A., Bennet WR Jr, Herriot DR. *Population inversion and continuous optical maser oscillation in a gas discharge containing a helium neon mixture*. *Phys. Rev. Lett.* , Vol. 6, p 106-110, February 1961.

5. Hall RN, Fenner GE, Kingsley JD, Soltys TJ, Carlson RO. *Coherent Light Emission From GaAs Junctions*. Physical Review Letters. 9 (9): 366–369. November 1962.
6. Geusic JE, Marcos H M, Van Uitert LG. *Laser oscillations in nd-doped yttrium aluminum, yttrium gallium and gadolinium garnets*. Applied Physics Letters 4 (10): 182. 1964.
7. Patel CKN. *Continuous-Wave Laser Action on Vibrational-Rotational Transitions of CO₂*. Physical Review 136 (5A): A1187–A1193. 1964.
8. Bridges WB. *Laser oscillation in singly ionized argon in the visible spectrum*. Appl. Phys. Lett. 4, 128 (1964); erratum: Appl. Phys. Lett. 5, 39 (1964).
9. Goldman L, Blaney DJ, Kindel DJ, Franke EK. *Effect of the laser beam on the skin*. J Invest Dermatol 1963;40:121–122.
10. Strong MS, Jako GJ. *Laser surgery in the larynx. Early clinical experience with continuous CO₂ laser*. Ann Otol 1972;81:791.
11. Anderson RR, Parrish JA. *Selective photothermolysis: precise microsurgery by selective absorption of pulsed radiation*. Science 1983;220:524– 527.
12. Masotti L. *Alcune riflessioni sul laser e i suoi impieghi*. 1995.
13. Galli M. *Interazione laser-tessuto*. Da: Campolmi P, Bonan P, Cannarozzo G, “Laser e sorgenti luminose in dermatologia” – Cap 1. Ed Masson. Maggio 2003.

Capitolo 3

***MonnaLisa Touch*TM: la prima tecnica laser-assistita per il trattamento dell'atrofia della mucosa vaginale.**

Metà delle scoperte scientifiche avvengono per caso, ma il caso favorisce una mente ben preparata.

Louis Pasteur

3.1 INTRODUZIONE

Dopo aver introdotto, nei precedenti capitoli, le informazioni propedeutiche sull'atrofia vaginale e sul Laser, possiamo ora finalmente presentare la metodica chiamata *MonnaLisa Touch*TM.

Per meglio comprendere la portata innovativa di questo trattamento, unico nel suo genere, è importante conoscere il *background* che ha permesso lo sviluppo e la messa a punto di questa metodologia. Innanzitutto è bene spendere due parole sull'azienda che ha ideato tutto questo: DEKA, una realtà che oggi, a trent'anni dalla nascita, è tra le prime società medicali di un grande gruppo industriale operante nel settore opto-elettronico, che produce, con tecnologia propria e *know-how* multidisciplinare, sorgenti e sistemi laser per molteplici applicazioni.

Grazie a un enorme bagaglio di esperienze e conoscenze di grande valore, DEKA rappresenta una testimonianza unica nel mondo della medicina laser-assistita. La sua storia è infatti un percorso attraverso tre decenni di ricerche e di

sperimentazioni che da sempre l'hanno portata a sviluppare nuovi sistemi all'avanguardia e metodiche innovative, avendo come unico intento quello di trasformare ogni scoperta in benefici reali.

Da sempre la Ricerca Scientifica ha rappresentato e rappresenta una scelta strategica fondamentale per DEKA che, con ingenti investimenti, cerca di introdurre nuove idee per nuove applicazioni nel campo medicale. Sin dalla sua nascita, DEKA ha promosso e collaborato a progetti di ricerca con importanti centri di eccellenza, sia italiani che stranieri, ed è costantemente impegnata nell'attività di sperimentazione clinica e di indagine istologica, avvalendosi dell'ausilio dei propri laboratori interni e di qualificati centri nazionali e internazionali. Questo le permette di comprovare l'efficacia e la sicurezza di ogni nuovo trattamento laser, per ognuno dei diversi settori della medicina in cui opera (dermatologia, gastroenterologia, ORL, ginecologia, oculistica, odontostomatologia, oncologia, ecc.), prima di presentarlo sul mercato.

Ed è proprio dalla sinergia di conoscenze interdisciplinari che nasce anche la nuova metodica *MonnaLisa Touch™*.

3.2 DEKA E IL LASER A CO₂

Risale agli anni '80 l'esperienza di DEKA nella produzione dei primi laser a CO₂ per dermatologia, chirurgia e terapia. In quegli anni il laser a CO₂ era considerato quasi esclusivamente come uno strumento chirurgico per tagliare, vaporizzare e coagulare i tessuti biologici. In realtà esisteva già un settore legato al suo uso terapeutico (indicato col termine *Low Level Laser Therapy*) avendo riscontrato un'azione biostimolante in affezioni quali reumatismi e artriti reumatoidi, esiti da traumi, stati

edematosi, circolazione periferica insufficiente, piaghe da decubito, ulcere varicose, ecc.

Per quanto riguarda le applicazioni chirurgiche del laser a CO₂, principalmente in Ginecologia e ORL, negli anni seguenti sono stati sviluppati dispositivi sempre più tecnologici, con sistemi di scansione e micromanipolatori ad altissima precisione, e con la possibilità di rilasciare speciali impulsi con alti picchi di potenza (oggi si arriva fino a 1.000 Watt) e tempi di emissione brevissimi (dell'ordine di qualche decina di microsecondi). E' però il settore della dermatologia e medicina estetica che ha portato alla ribalta mondiale il laser a CO₂ in questi ultimi anni, grazie alla novità della *DOT Therapy* ovvero il trattamento frazionato per il ringiovanimento della cute del viso.

3.2.1 DOT Therapy: il fotoringiovanimento frazionato micro-ablativo

Il *resurfacing* (termine non tradotto in italiano, che letteralmente indica il "rifacimento di una superficie") ablativo della pelle, con sorgenti a CO₂, è sempre stato considerato il *gold-standard* nella chirurgia laser per il trattamento delle rughe e dei danni dovuti al fotoinvecchiamento cutaneo.

Le prime pubblicazioni relative a questa metodica risalgono già alla fine degli anni '80. Il trattamento consiste nell'utilizzare un sistema di scansione che muove rapidamente un fascio laser su un'area ampia qualche cm² rimuovendo gli strati superficiali

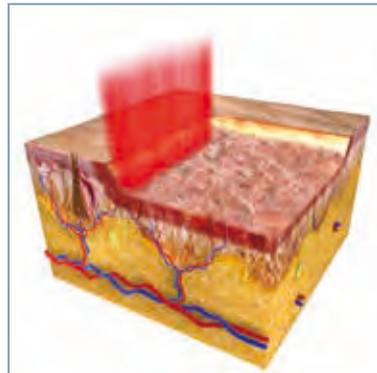


Fig. 3.1 – Rimozione degli strati superficiali della cute (ablazione) con una scansione uniforme, non frazionata (*Skin Resurfacing* tradizionale).

della cute. Il trattamento può essere effettuato in zone limitate (come per esempio l'area attorno alla bocca o agli occhi) o anche sull'intero viso (trattamento *full-face*). A causa però dei lunghi tempi di guarigione, della delicata gestione delle cure e medicazioni dopo l'intervento e dei possibili effetti secondari, non proprio trascurabili,

la diffusione e notorietà di questa tecnica è sempre stata molto limitata. Nel passare degli anni l'interesse del mercato si è infatti orientato verso sistemi e metodiche sempre meno invasivi, sia per l'esigenza dei pazienti di non interrompere le attività lavorative e sociali per tempi lunghi, sia per minimizzare l'incidenza dei possibili effetti collaterali e semplificare la gestione del post-intervento. Questa situazione ha stimolato la ricerca di nuovi metodi e protocolli che combinino l'efficacia con un ridotto tempo di recupero post-trattamento.

All'insegna di questa filosofia, negli anni 2003-2004 si era molto diffuso un nuovo trattamento mini-invasivo che utilizzava per la prima volta un sistema laser **frazionato** per effettuare un trattamento di fotoringiovanimento non ablativo della pelle.

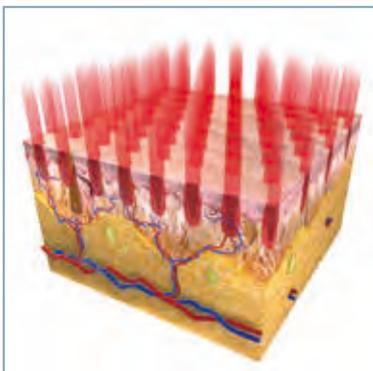


Fig. 3.2 - Denaturazione termica della cute prodotta da un laser non ablativo frazionato (Fotoringiovanimento frazionato non ablativo).

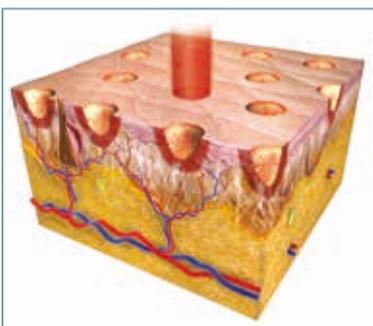


Fig. 3.3 - Rimozione degli strati superficiali della cute (ablazione) con una scansione frazionata (DOT Therapy o Skin Resurfacing frazionato).

La novità interessante introdotta da questa metodica è stata proprio l'idea di irraggiare la pelle in modo frazionato e non più uniforme. Il laser (in questo caso non ablativo) produce delle denaturazioni del tessuto in modo mirato su colonne profonde, separate tra loro e circondate da tessuto intatto, non trattato. Quest'ultima caratteristica è la vera novità del trattamento frazionato rispetto a quello tradizionale! Non appena si produce la denaturazione nelle colonne di tessuto, inizia il processo di riparazione, favorito e accelerato proprio dalla presenza di risorse che provengono velocemente dalle parti di tessuto sano che circondano le zone denaturate dal laser. E' facilmente intuibile quali possano essere i vantaggi di questa metodologia: minima invasività e tempi di recupero estremamente brevi. Per contro però si ha lo svantaggio, non trascurabile, di una minore efficacia che richiede la ripetizione di più sedute di trattamento, cadenzate temporalmente, per non deludere le aspettative dei pazienti, soprattutto di quelli con segni di invecchiamento cutaneo più marcati ed evidenti.

Vista l'esperienza ormai acquisita nella produzione di laser a CO₂ con sistema di scansione, DEKA, già nel 2004, ha iniziato lo sviluppo e la validazione clinica di quella che negli anni seguenti sarebbe diventata nota nel mondo come *DOT Therapy* o *Fractional Skin Resurfacing* ovvero il Fotoringiovanimento Frazionato Micro-Ablativo. L'idea di partenza era semplice: fondere i vantaggi dello *Skin Resurfacing* tradizionale con laser a CO₂, con quelli della nuova tecnica frazionata non ablativa, eliminando allo stesso tempo gli svantaggi di entrambe le metodiche. Se infatti il trattamento frazionato permetteva una drastica riduzione dei tempi di recupero per i motivi sopra menzionati, perché non applicare questa stessa procedura anche al laser a CO₂ che sicuramente garantiva un'elevata efficacia?

I risultati ottenuti sin dalle prime prove sperimentali furono sorprendenti. Questi hanno portato, dopo le necessarie accurate validazioni cliniche e istologiche, alla commercializzazione del sistema *SmartXide DOT* e all'avvento della *DOT Therapy*, ormai diffusa e conosciuta in tutto il mondo (per verificarne la popolarità basta digitare su un motore di ricerca internet le parole "*DOT Therapy Laser*" e "*SmartXide DOT*").

E' importante osservare che i numerosi sistemi frazionati a CO₂ presenti oggi sul mercato, grazie al grande successo ottenuto da questa metodica, solo apparentemente si basano sullo stesso principio di azione. In realtà presentano importanti differenze tecniche (potenza di uscita, forma e durata dell'impulso, sistema di scansione, funzione *Stack* con emissione frazionata anche nel tempo, distanza tra i punti di scansione) che si ripercuotono inevitabilmente sulle risultanze cliniche e sui tempi di recupero. Senza addentrarci troppo nell'ambito dermatologico, è però utile comprendere meglio il principio di azione della *DOT Therapy* che è strettamente legato alle caratteristiche tecniche dei sistemi DEKA. I naturali effetti d'invecchiamento, l'esposizione alla luce solare e l'inquinamento dell'aria determinano un graduale deterioramento della pelle, della sua struttura e delle sue funzioni. Per "ringiovanire" la pelle non basta solo eliminare gli strati superficiali della cute attenuando parzialmente le rughe. E' importante arrivare in profondità per stimolare il derma a produrre nuovo collagene e nuova struttura della matrice extracellulare che avranno la funzione di sostegno, come un'impalcatura, degli strati più superficiali. Se questo concetto è teoricamente semplice da comprendere non lo è la sua concreta realizzazione. Andando a stimolare il derma in profondità si corre infatti il rischio di danneggiare l'epidermide che è in superficie e che fa inevitabilmente da barriera espletando quella che è la sua

funzione fisiologica. Per riuscire a stimolare efficacemente il derma preservando allo stesso tempo la superficie della cute, DEKA ha messo a punto due tecnologie esclusive che differenziano la *DOT Therapy* da qualsiasi altro trattamento affine: la forma d'impulso *SmartPulse* e la modalità di emissione *SmartStack*.

3.2.1.1 Tecnologia a emissione pulsata *SmartPulse*

Coniugando la conoscenza clinica con la tecnologia, DEKA ha realizzato una particolare forma d'impulso per i suoi laser a CO₂ dedicati allo *Skin Resurfacing* frazionato, per ottenere ablazione e denaturazione termica con un unico impulso. L'elevato picco di potenza che caratterizza la prima parte dell'impulso *SmartPulse* permette di rilasciare una grande quantità di energia in tempi brevissimi per una rapida ablazione dell'epidermide e dei primi strati del derma, meno ricchi di acqua. Dopo la rapida vaporizzazione l'energia dell'impulso diffonde il calore in profondità nel derma, un tessuto ricco di acqua. Il derma riceve così una stimolazione corretta per lo *shrinkage* (contrazione) immediato e la produzione di nuovo collagene. Allo stesso tempo il danno all'epidermide è minimo e i tempi di recupero sono estremamente ridotti.

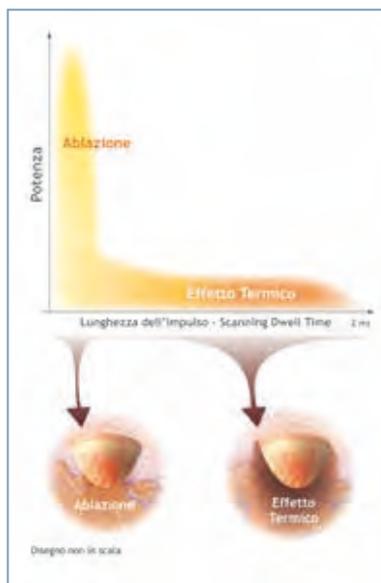


Fig. 3.4 - *SmartPulse*: ablazione e denaturazione termica, due effetti in un unico impulso.

3.2.1.2 Funzione SmartStack

Questa tecnologia permette 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*). Utilizzando un livello di *Stack* maggiore di 1 equivale in pratica a frazionare un impulso nel tempo, consentendo in questo modo alla cute di raffreddarsi tra due impulsi successivi, minimizzando così il danno termico. Il rischio di effetti secondari indesiderati è ulteriormente ridotto, soprattutto sulle aree particolarmente delicate e sui pazienti con fototipo scuro o asiatico. Anche quando occorre una maggiore profondità di ablazione, come per esempio nel trattamento delle cicatrici, la funzione *SmartStack* permette di raggiungerla evitando comunque i forti sanguinamenti della cute e i conseguenti lunghi tempi di recupero.

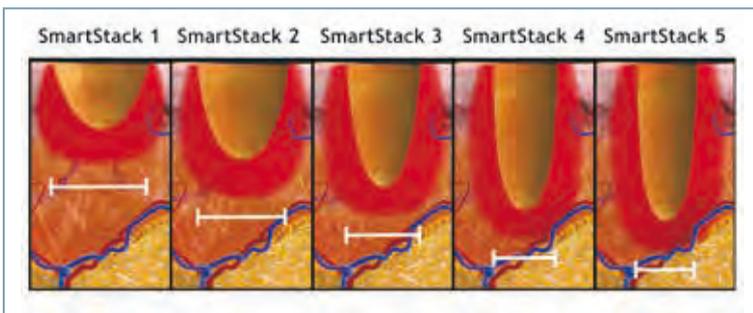


Fig. 3.5 - Effetto sulla cute degli impulsi laser in funzione dell'incremento di livello *SmartStack*. Si riscontra un progressivo restringimento del canale di ablazione dovuto al maggiore effetto *shrinkage*.

3.3 DAL FOTORINGIOVANIMENTO DELLA PELLE A QUELLO DELLA MUCOSA VAGINALE

La curiosità, dote essenziale dei ricercatori per ottenere nuove scoperte scientifiche, ha spinto DEKA a esplorare

la possibilità di applicazione della *DOT Therapy* in settori diversi dalla Dermatologia e dalla Medicina Estetica. Per quanto possa sembrare bizzarro l'accostamento mentale tra "pelle del viso" e "mucosa vaginale", si deve tener presente, come accennato all'inizio di questo capitolo, la decennale esperienza di DEKA nella produzione di sistemi laser a CO₂ per Ginecologia. Questa opportunità ha fatto sì che, già nel 2008, partissero le prime prove sperimentali che hanno portato al successivo sviluppo del V²LR (*Vulvo-Vaginal Laser Reshaping*) e, più specificatamente, del trattamento *MonnaLisa Touch*TM.

Il punto di partenza è stato l'evidente effetto di "fotoringiovanimento" dei tessuti, conseguente al trattamento frazionato col laser a CO₂. E' importante a questo punto soffermarsi sul concetto di ringiovanimento. Nell'accezione comune, il termine "ringiovanimento" viene sempre associato a qualcosa di fondamentalmente estetico e quindi quasi superfluo. Eliminare le rughe dal viso per esempio, può avere risvolti psicologici sull'autostima del paziente, ma non ha nessuna funzione più strettamente "terapeutica". Questo però non è completamente vero. Tutte le parti del nostro corpo (cellule, tessuti, organi, apparati e strutture anatomiche) invecchiando perdono "funzionalità". In alcuni casi questo ha delle implicazioni concrete trascurabili, in altri invece porta a gravi problematiche. Basti pensare alle cellule cerebrali, all'apparato osteo-articolare o all'occhio, solo per fare alcuni esempi. Se fosse possibile "ringiovanirli" è facile immaginare quali importanti risultati terapeutici si potrebbero ottenere. Lo stesso concetto vale anche per la mucosa vaginale. Com'è stato ampiamente illustrato nel primo capitolo di questo libro, l'invecchiamento nella donna, correlato all'entrata in menopausa, coinvolge tra i vari organi anche la vagina portando in molti casi all'atrofia vaginale. Se un trattamento permettesse di

“ringiovanire” la mucosa vaginale, ripristinando la struttura del periodo pre-menopausico, possiamo realisticamente ipotizzare che anche le problematiche correlate all’atrofia vaginale ne trarrebbero importanti benefici. Questo, come vedremo dettagliatamente in seguito, è quanto si riesce a ottenere col trattamento *MonnaLisa Touch™* che può quindi essere correttamente definito come un trattamento laser di ringiovanimento vaginale, stando però ben attenti a non confonderlo con quelle procedure di “*Laser Vaginal Rejuvenation*” che sono tanto popolari soprattutto negli Stati Uniti.

3.3.1 Cute vs. mucosa vaginale

Prima di illustrare nel dettaglio la procedura e i risultati delle ricerche effettuate, è utile soffermarsi sulle principali analogie e differenze tra cute e mucosa vaginale.

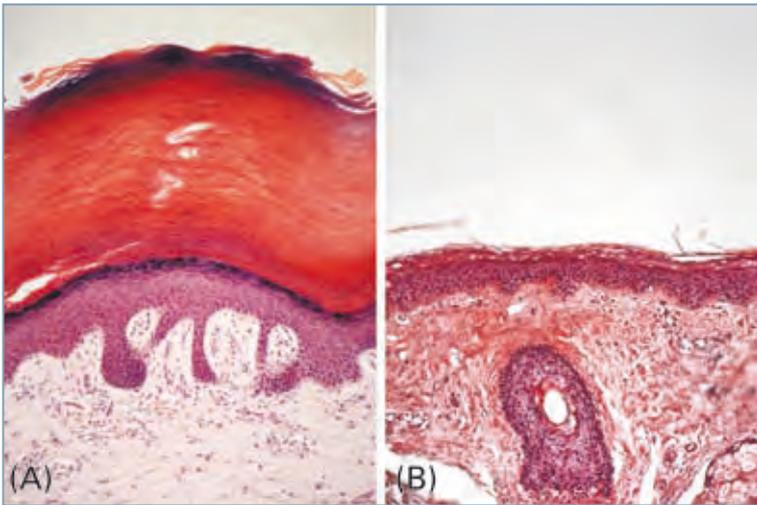


Fig. 3.6 - Preparazione istologica della cute colorata con ematossilina e eosina (H&E). Lo spessore dell'epidermide è molto variabile a seconda della sede anatomica. In figura sono mostrati due casi estremi di cute molto spessa (A) - polpastrello - e di cute molto sottile (B) - palpebra. [Per gentile concessione del Prof. A. Calligaro – Università di Pavia].

Cute:

La cute o pelle costituisce una robusta struttura laminare che riveste la superficie del corpo.

Vi si riconoscono tre strati:

- l'epidermide: è costituito da un epitelio pavimentoso stratificato che si rinnova continuamente, grazie a un processo dinamico nel quale le cellule dello strato basale, proliferanti, sostituiscono gli strati soprastanti dello strato spinoso, granuloso e corneo. Lo strato corneo è costituito da sottili lamine di cheratina, che si distaccano continuamente alla superficie della cute.
- il derma: è costituito da tessuto connettivo denso, con fibre collagene ed elastiche, a funzione di supporto, e una matrice amorfa, nella quale decorrono vasi sanguigni e linfatici oltre a fibre e terminazioni nervose e ghiandole, ricca di polisaccaridi e glicoproteine che la rendono molto permeabile favorendo le funzioni trofiche anche nei confronti dell'epidermide che, come tutti gli epiteli, è priva di vasi.
- l'ipoderma: in continuità con la parte profonda del derma e costituisce un piano di svincolo dalla fascia comune. Se presenta grosse quantità di grasso, questo costituisce il pannicolo adiposo sottocutaneo.

Mucosa Vaginale:

La vagina è un condotto che rappresenta l'ultimo tratto delle vie genitali.

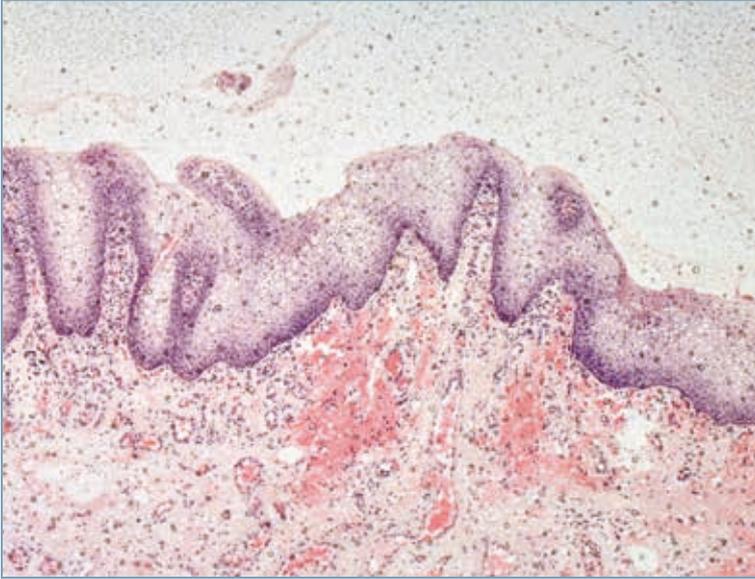


Fig. 3.7 – Preparazione istologica della mucosa vaginale colorata con ematossilina e eosina (H&E).
[Per gentile concessione del Prof. A. Calligaro Università di Pavia].

Ha la struttura degli organi cavi, pertanto vi si evidenzia una tonaca mucosa, una muscolare e una avventizia. Non è presente sottomucosa.

La tonaca mucosa (ovvero la mucosa vaginale) è formata dall'epitelio di rivestimento e dalla lamina propria (figura 3.7):

- L'epitelio di rivestimento è del tipo pavimentoso, stratificato, non cheratinizzato. Si rinnova grazie a un processo dinamico che inizia con la proliferazione delle cellule dello 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 collagene e, in misura minore, di fibre elastiche.

Sono presenti vasi, soprattutto venosi e accumuli di linfociti, mentre mancano le ghiandole. Ha funzioni di sostegno e trofiche (ovvero di nutrimento) per l'epitelio di rivestimento ed è determinante per l'architettura della parete vaginale.

Per una migliore comprensione degli studi che saranno presentati in seguito, è importante soffermarsi maggiormente su quello che è il terreno di fondo del connettivo, solitamente chiamato sostanza fondamentale o amorfa (in inglese *Ground Matrix*). Il termine "amorfa" indica che, dal punto di vista morfologico, non ha struttura (nemmeno ai più alti ingrandimenti del microscopio elettronico rivela una sua organizzazione). E' costituita prevalentemente da macromolecole chiamate proteoglicani, che si associano a lunghe catene di acido ialuronico mediante speciali proteine. I proteoglicani hanno la capacità di intrappolare consistenti quantità di acqua. Alla loro presenza è da attribuire la capacità di elevata idratazione della lamina propria. Grande ricchezza di acqua della matrice connettivale significa turgore della mucosa che coopera con la funzione di sostegno del collagene ben strutturato. La notevole presenza di molecole di acqua implica anche un'elevata permeabilità che favorisce il metabolismo della mucosa in termini di un più facile trasporto di metaboliti, nutrienti, ecc. dai capillari ai tessuti (all'epitelio di rivestimento, al connettivo stesso, alle fibre e terminazioni nervose) e il drenaggio delle sostanze di rifiuto dai tessuti ai capillari sanguigni e linfatici. Nel caso in cui la sostanza amorfa sia scarsa o povera di acqua, all'epitelio non riuscirà ad arrivare il "nutrimento" necessario per un suo corretto sviluppo né una corretta idratazione.

Infine, vista l'importanza del loro ruolo, è utile qualche parola in più riguardo ai fibroblasti. Rappresentano la popolazione cellulare più diffusa nel tessuto connettivo. Sono in grado di produrre ed elaborare la componente fibrillare (fibre collagene, fibre reticolari ed elastiche) e i componenti della sostanza amorfa del tessuto connettivo (acido ialuronico, proteoglicani e glicoproteine), controllandone l'organizzazione plastica e alcune attività. Dopo aver elaborato la matrice extracellulare, i fibroblasti rimangono imprigionati tra le fibre e vengono chiamati fibrociti, che costituiscono elementi quiescenti, circondati dalle fibre collagene. Un danno tissutale stimola i fibrociti a tornare fibroblasti attivi, stimolandone la funzione con la sintesi di nuovo collagene.

Un'importante differenza tra cute e mucosa vaginale è relativa alla struttura dell'epitelio. Nella cute lo strato più esterno, continuamente sottoposto a sollecitazioni meccaniche, è lo strato corneo, costituito da più strati di cellule morte appiattite. Il suo spessore varia a seconda della sede in quanto il maggiore stress meccanico corrisponde a un maggior spessore. E' ricco di cheratina ed estremamente povero di acqua.

Diversa è la condizione della mucosa vaginale dove l'epitelio non è cheratinizzato ed è invece ricco di acqua.

Queste differenze hanno un'importante implicazione, clinica e tecnologica, per il trattamento in questione. Come ripetuto più volte, il laser a CO_2 ha una particolare affinità con l'acqua. A causa del loro diverso grado di idratazione, l'effetto dell'assorbimento del laser da parte della cute o della mucosa vaginale non sarà quindi lo stesso. In particolare, per ottenere un'azione di stimolazione profonda del derma (nella pelle) e della lamina propria (nella mucosa vaginale), si devono superare due diversi tipi di barriere.



Fig. 3.8 - Sistemi laser a CO₂ SmartXide² V²LR ed il nuovo Smartxide Touch V²LR di DEKA con scanner frazionato HiScan V²LR per il trattamento *MonnaLisa Touch™* (domanda di brevetto depositata).

Come abbiamo visto, per la *DOT Therapy* DEKA ha messo a punto la speciale forma di impulso *SmartPulse* che favorisce la rapida vaporizzazione dell'epidermide (senza danni) e apre la via alla successiva diffusione dell'energia

laser in profondità. Considerando le premesse appena fatte, nella mucosa vaginale la barriera da superare ha caratteristiche diverse rispetto a quelle dell'epidermide. Un laser nato per il fotoringiovanimento cutaneo non ha quindi la stessa efficacia nel fotoringiovanimento della mucosa. Per questo DEKA ha sviluppato il sistema *SmartXide² V²LR* (figura 3.8), dedicato al trattamento *MonnaLisa TouchTM*, in grado di rilasciare energia con una forma d'impulso specifica, derivata dalla sua esperienza in dermatologia, ma che tenga conto delle peculiarità della mucosa vaginale: il *DEKA-Pulse* o *D-Pulse* (figura 3.9).

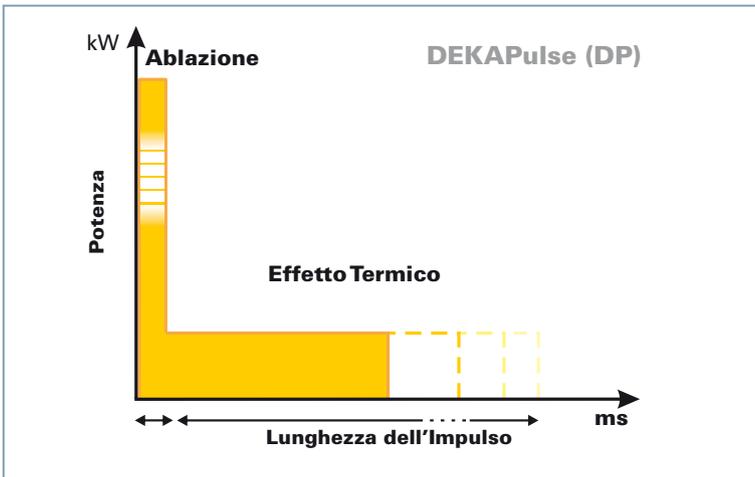


Fig. 3.9 - DEKA-Pulse: l'impulso appositamente sviluppato da DEKA per il trattamento *MonnaLisa TouchTM*.

Come si può osservare in figura, il DEKA-Pulse è composto da due distinte parti:

- la prima ad energia ed elevata potenza di picco costanti, per una rapida ablazione superficiale della componente epiteliale della mucosa atrofica caratterizzata da un basso contenuto di acqua;

- la seconda variabile, con minore potenza di picco e tempi di emissione maggiori, che permette una diffusione termica in profondità dell'energia laser, per ottenere la stimolazione della sintesi di nuovo collagene e dei componenti della sostanza amorfa della matrice.

3.4 DALL' INDAGINE CLINICA ALLA NECESSITA' DI UNA RICERCA MICROSCOPICA ULTRASTRUTTURALE

I risultati ottenuti con le prime prove sperimentali nel 2008 sono stati molto incoraggianti. Com'è facile immaginare, sono serviti tempo e dedizione per mettere a punto i molteplici aspetti legati a una metodica di trattamento completamente nuova (il sistema di scansione dedicato, la forma di impulso migliore, il protocollo terapeutico, la procedura clinica, ecc..). La numerosa casistica raccolta negli anni ha consentito di collezionare dati molto importanti, la cui analisi e valutazione ha permesso di mettere a punto la metodica nei suoi dettagli. Nel 2011 è stato pubblicato un articolo su "*The American Journal of Cosmetic Surgery*" relativo all'esperienza, con un protocollo preliminare, di un'équipe di ginecologi dell'Università di Mendoza in Argentina, che hanno trattato 92 donne in menopausa dal dicembre 2009 al dicembre 2010^[1]. Dai questionari di valutazione, compilati dalle pazienti, sono emersi importanti miglioramenti a seguito del trattamento per quanto riguarda le problematiche legate alla secchezza vaginale (nel 67,5% dei casi), alla dispareunia (nel 62,5%), e alle sensazioni di irritazione o bruciore (nel 50%). Per quanto i questionari possano essere standardizzati e la valutazione venga effettuata nel modo più obbiettivo possibile, continuava a mancare la concreta possibilità di

dimostrare, in modo inequivocabile, il “ringiovanimento” della mucosa. Mentre con un trattamento per la rimozione delle rughe o delle macchie, bastano delle semplici foto “prima e dopo” per convincere chiunque dell’efficacia di una metodica, è facilmente intuibile che questo non lo si possa estendere al trattamento dell’atrofia vaginale. Da questa consapevolezza è nata l’esigenza di mettere a punto un metodo per dimostrare l’evidenza del miglioramento “funzionale” della vagina. Nello studio pubblicato dall’equipe argentina era stata effettuata anche una prima indagine con immagini istologiche che mostravano un aumento dell’epitelio e un incremento della quantità di collagene nel tessuto connettivo. E’ da tener presente però che, mentre le pubblicazioni relative all’anatomia e alla fisiologia della cute sono numerosissime, per la mucosa vaginale le conoscenze sono invece più limitate. Mancava quindi anche un’adeguata preparazione di base per poter effettuare una corretta e accurata indagine istologica. E’ stato pertanto necessario sviluppare, in collaborazione con l’Ospedale IRCCS San Raffaele di Milano e l’Università di Pavia, uno studio apposito per valutare l’effetto del laser a CO₂ sulla mucosa vaginale e che permettesse anche di individuare il miglior protocollo terapeutico.

3.5 OSSERVAZIONI MICROSCOPICHE E ULTRASTRUTTURALI SULLA MUCOSA VAGINALE DOPO TRATTAMENTO CON LASER CO₂ FRAZIONATO

In questo primo studio sono state sottoposte a trattamento col laser a CO₂ frazionato *SmartXide² V²LR* donne in post-menopausa, con prolasso della parete vaginale anteriore. Scopo dello studio era quello di valutare le modificazioni morfologiche dei tessuti in relazione alle diverse condizioni

di trattamento (potenza di uscita, tempo di esposizione, distanza dei singoli punti, livello di *Stack*, fluensa energetica complessiva).

Dopo il trattamento in vivo e l'escissione chirurgica, i campioni di mucosa sono stati trattati con protocolli specifici per l'irraggiamento laser e per l'osservazione al microscopio luce e al microscopio elettronico a trasmissione.

La nostra attenzione, pur nei limiti temporali imposti dal breve intervallo fra il trattamento e la fissazione dei campioni, si è principalmente focalizzata sulle modificazioni sia della matrice connettivale della mucosa sia delle componenti cellulari più direttamente implicate nel suo trofismo.

Le osservazioni condotte sulla matrice connettivale della mucosa hanno dimostrato soprattutto significative modificazioni morfologiche delle fibre collagene, verosimilmente dovute al diverso grado di aumento di temperatura delle singole aree coinvolte.

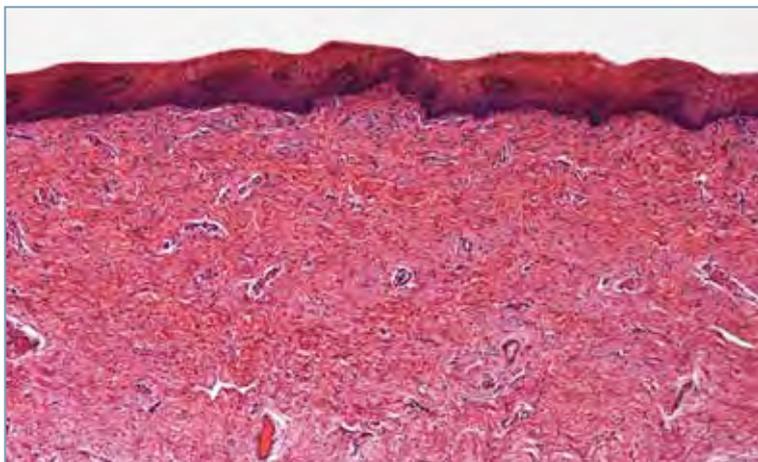


Fig. 3.10 - Preparazione istologica di sezioni della mucosa vaginale colorata con ematosillina e eosina (H&E). L'immagine mostra le condizioni basali di una paziente in menopausa sottoposta a trattamento con il sistema di Smartxide² V²LR. L'immagine morfologica indica un'atrofia vaginale ad uno stadio marcato, con epitelio assottigliato (con cellule di piccole dimensioni), assenza di desquamazione superficiale e tessuto connettivo sottoepiteliale spesso (con collagene denso e "vecchio"). È inoltre possibile osservare le papille atrofiche residue.

A seguito del trattamento frazionato col laser a CO₂ si individuano, al microscopio luce, diverse aree della mucosa, più o meno estese in base alla maggiore o minore fluenza utilizzata nei vari protocolli sperimentati (figura 3.11):

1. Cratere di vaporizzazione e 2. zona di carbonizzazione: l'interazione tra l'emissione pulsata del raggio laser e la mucosa vaginale provoca un brusco aumento di temperatura del tessuto coinvolto che produce la "vaporizzazione" nelle strutture più superficiali (tutto l'epitelio e fino a 1mm nel connettivo per i protocolli più energetici) che hanno un elevato contenuto in acqua, e un sottile strato di "carbonizzazione" delle strutture più superficiali rimanenti.



Fig. 3.11 - 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 *SmartXide² V²LR*.

3. Fascia di condensazione: il connettivo sotto il cratere di vaporizzazione è anch'esso interessato da una perdita di acqua. Si evidenzia una striscia di materiale molto più intensamente colorato in rosso, dove il collagene si concentra per coagulazione termica. Il gradiente di temperatura produce diversi effetti sul tessuto, principalmente costituito da collagene, ovvero una "contrazione" delle fibre oltre 65°C e la denaturazione tra 50 e 65°C. L'estensione di questa zona varia, in modo non lineare con l'energia, in funzione del protocollo utilizzato (*range* da 50 a 110 µm). Il collagene denaturato crea una sorta di barriera termica nei confronti della mucosa sottostante.
4. Utilizzando la microscopia tradizionale, nella parte sottostante alla guaina di condensazione non si riscontrano particolari effetti: si evidenziano i fasci festonati di fibre collagene, i vasi e le altre strutture normalmente presenti nel connettivo, senza peraltro rilevare una significativa presenza di altre tipologie cellulari correlabili a una situazione infiammatoria, quali linfociti, plasmacellule, mastociti o altre cellule tipiche dell'infiammazione. Nella parte superficiale di quest'area si registra comunque sicuramente un aumento di temperatura (ipertermia). E' importante osservare che attorno ai 45°C si ha l'attivazione delle *Heat Shock Proteins* (HSP), che può avvenire solo a cellule integre e pienamente funzionali. In particolare ricordiamo la *HSP47* capace di promuovere nei fibroblasti la sintesi di nuovo collagene.

3.5.1 Indagine con microscopio a luce polarizzata

Il passaggio successivo del nostro studio ha preso in esame immagini di microscopia polarizzata. Il microscopio a luce

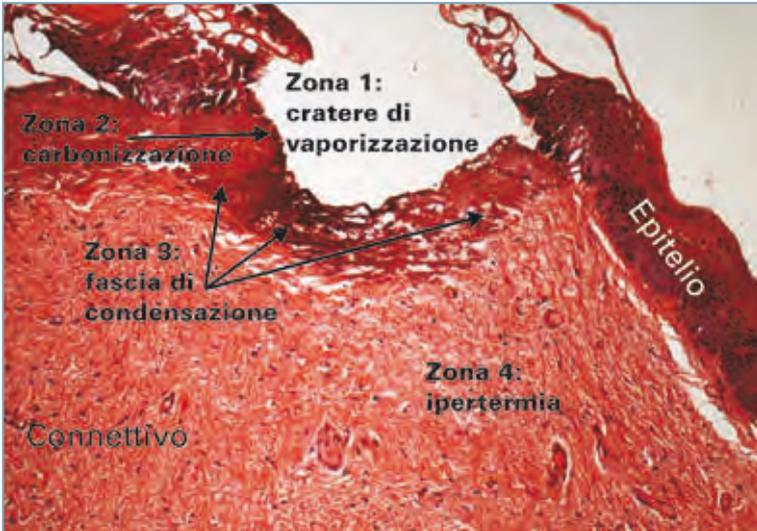


Fig. 3.12 - Preparazione istologica di una sezione della mucosa vaginale colorata con ematossilina e eosina (H&E). Come si vede nella figura 3.11, in seguito al trattamento con laser CO₂ frazionato con SmartXide²V²LR CO₂, si possono distinguere quattro diverse aree. a seguito del trattamento con laser a CO₂ frazionato *SmartXide² V²LR*. Si osserva che al microscopio luce nella zona 4 non si evidenziano sostanziali modificazioni strutturali. E' possibile ritrovare il caratteristico aspetto festonato tipico del tessuto connettivo della mucosa vaginale.



Fig. 3.13 - La stessa sezione illustrata nella figura 3.12, osservata al microscopio polarizzatore. La fascia di condensazione è buia: il collagene denaturato ha completamente perso la sua struttura organizzata. Nella zona 4 si evidenzia ora un'ampia area, subito al di sotto della fascia di denaturazione, con una parziale perdita di birifrangenza e un ridotto calibro dei fasci di fibre collagene.

polarizzata è progettato per osservare tessuti che sono visibili soprattutto a causa del loro carattere "otticamente anisotropo". In pratica, sono messe in evidenza le strutture altamente organizzate, mentre quelle che non lo sono (otticamente isotrope) risultano buie.

Poiché i fasci di fibre collagene, abbondantemente presenti nel tessuto connettivo, sono altamente organizzati, vengono messi ben in evidenza con la microscopia a luce polarizzata. Al contrario l'epitelio, in cui le cellule non contengono strutture ad elevato grado di organizzazione, appare buio.

Le figure 3.12 e 3.13 mostrano la stessa sezione di tessuto, trattata con il sistema laser *SmartXide² V²LR*, osservata rispettivamente al microscopio ottico tradizionale e al microscopio a luce polarizzata.

Utilizzando il microscopio a luce polarizzata è innanzitutto possibile confermare che nella zona 3 è presente collagene denaturato, ovvero collagene che ha completamente perso il suo alto grado di organizzazione molecolare: esso infatti risulta completamente buio, senza alcun bagliore. Andando a osservare tutta la parte al di sotto della fascia di denaturazione risultano ben visibili, grazie alla birifrangenza, i fasci festonati delle fibre di collagene, caratteristici del tessuto connettivo della mucosa vaginale. A una più accurata analisi è però possibile individuare una nuova regione che non era facilmente visibile nell'immagine tradizionale. Immediatamente sotto il collagene denaturato è infatti presente un'ampia zona caratterizzata dalla diminuzione del diametro dei fasci di fibre di collagene. Quest'area, che solo apparentemente non aveva risentito dell'effetto del laser, in realtà ne è stata quindi interessata, senza comunque riportare danni irreversibili alle sue strutture.

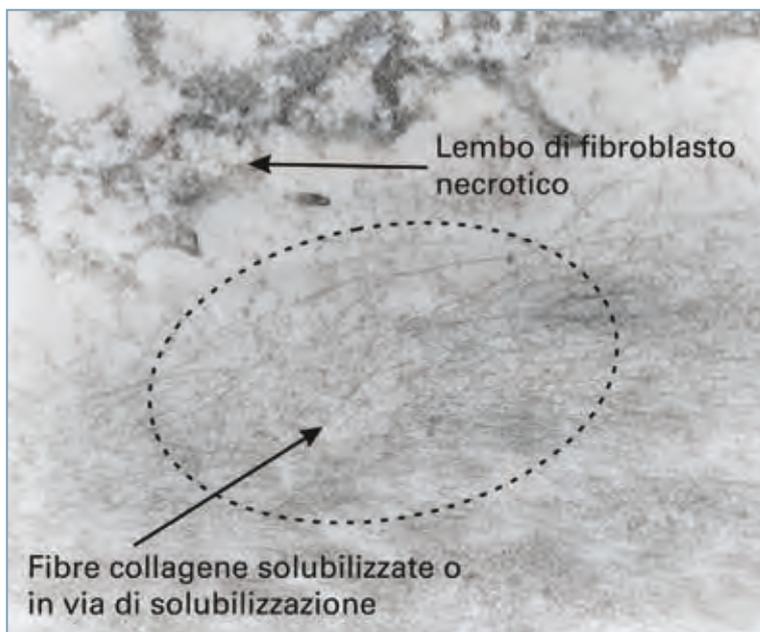


Fig. 3.14 - Immagine al microscopio elettronico di una porzione di tessuto corrispondente alla fascia di denaturazione del collagene. Nella parte alta si osserva un lembo di fibroblasto necrotico. Nella parte centrale si evidenziano numerose strutture filamentoze senza alcuna struttura organizzata: sono il risultato di fibre collagene solubilizzate o in via di solubilizzazione (vista longitudinale).

3.5.2 Indagine con microscopio elettronico a trasmissione

A seguito delle osservazioni appena menzionate, siamo passati ad analizzare le diverse aree della mucosa utilizzando la microscopia elettronica.

La figura 3.14 mostra una sezione di tessuto prelevato da un'area interessata da denaturazione del collagene, corrispondente alla zona che non ha mostrato alcuna birifrangenza al microscopio a luce polarizzata.

Nella parte alta dell'immagine è visibile una porzione di fibroblasto necrotico col citoplasma al suo interno in cui non è più riconoscibile alcuna struttura. Le proteine strutturali delle cellule sono infatti molto sensibili agli effetti termici, più di quanto non lo sia il collagene che è una proteina

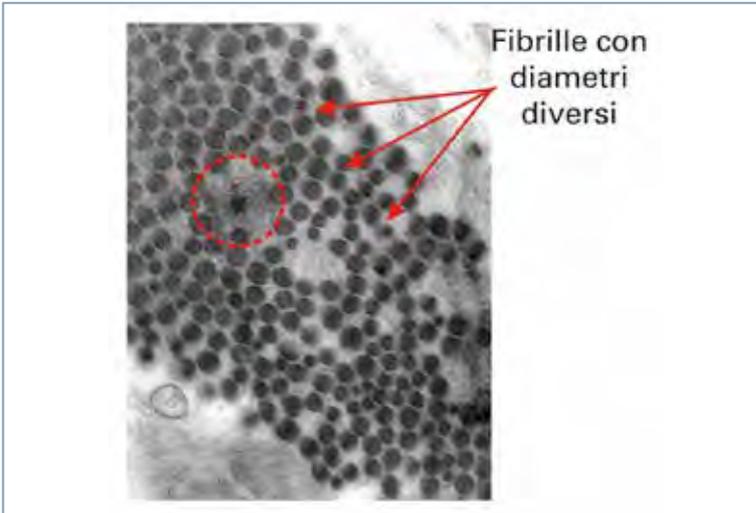


Fig. 3.15 - Immagine al microscopio elettronico di una porzione di tessuto corrispondente alla fascia di denaturazione del collagene. Vista trasversale di fibre collagene in via di solubilizzazione. Si osserva che alcune fibrille hanno un diametro più piccolo. Nell'area all'interno della circonferenza tratteggiata, si evidenziano punti dispersi attorno a quella che era una fibrilla di collagene: sono le sezioni di singole molecole filamentose che si staccano per andare poi a disporsi in modo disordinato.

extracellulare. In una cellula può bastare la coagulazione di una sola proteina per bloccare i meccanismi interni che garantiscono la sopravvivenza e la funzionalità della cellula stessa.

Nella parte centrale dell'immagine sono invece evidenti fibre di collagene solubilizzate o in via di solubilizzazione, con i singoli filamenti disposti in modo casuale. La denaturazione del collagene induce infatti la solubilizzazione dei suoi componenti a causa della rottura dei legami covalenti che trattengono le molecole elementari nel loro naturale stato organizzato.

La figura 3.15 mostra una sezione trasversale di fibrille di collagene ancora riunite in fasci, in uno stadio iniziale di solubilizzazione. Il diametro delle fibrille si sta restringendo ed alcune si sono frammentate in singole componenti molecolari filamentose che verranno progressivamente disperse.

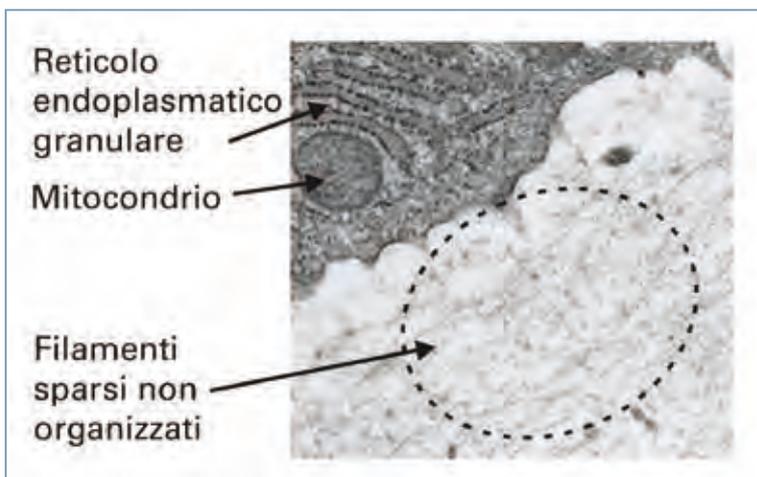


Fig. 3.16 - Immagine al microscopio elettronico della parte periferica di un fibroblasto in una porzione di tessuto a circa 500-600 μm sotto la fascia di denaturazione del collagene. Nella parte più in alto si può osservare un fibroblasto con la membrana cellulare perfettamente conservata e gli organuli citoplasmatici altamente organizzati. Nella parte più in basso sono presenti singoli filamenti sparsi e non ancora organizzati.

Nella figura 3.16 possiamo osservare una sezione della mucosa che si trova all'incirca 500-600 μm al di sotto della fascia di denaturazione del collagene, nella zona che ha mostrato una birifrangenza al microscopio a luce polarizzata, ma in cui il diametro delle fibre di collagene appare più ridotto del normale (cfr. figura 3.13).

In questa immagine possiamo inoltre distinguere i filamenti sparsi e non ancora organizzati ma in questo caso, a differenza di quanto osservato nella figura 3.14, la cellula nella parte superiore dell'immagine non è necrotica e anzi presenta una membrana perfettamente conservata e organuli (reticolo endoplasmatico rugoso e mitocondri) altrettanto ben conservati e attivi. È evidente che questa cellula è un fibroblasto e non un fibrocita quiescente.

Viste le buone condizioni dei fibroblasti in questa zona, possiamo supporre che i filamenti dispersi illustrati nella figura 3.16 non rappresentino collagene solubilizzato, ma siano piuttosto costituiti da nuovi filamenti proteici prodotti

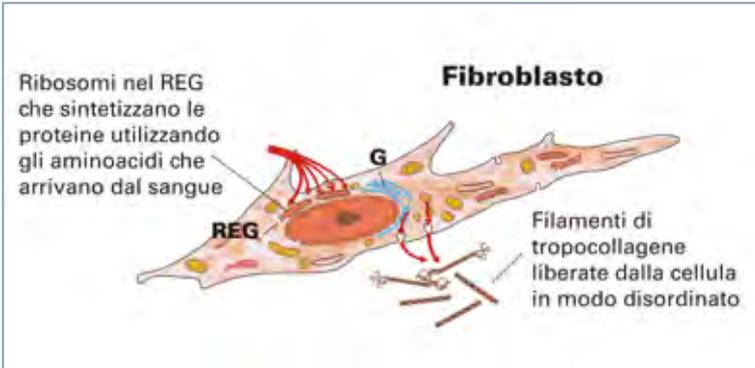


Fig. 3.17 - Rappresentazione schematica delle vie metaboliche di sintesi del collagene in un fibroblasto.

dalla cellula soprastante. Come suggerito dalla ultrastruttura del fibroblasto con il reticolo endoplasmatico granulare ben sviluppato e cisterne a contenuto denso e filamentoso.

Per poter meglio illustrare l'ipotesi appena formulata vediamo quali sono le vie metaboliche che permettono ai fibroblasti di produrre collagene.

Nella struttura generale di un fibroblasto, illustrata nella figura 3.17, possiamo individuare diversi componenti. Tra queste, due organuli in particolare rivestono per noi un particolare interesse:

1. Reticolo Endoplasmatico Granulare (REG): è costituito da una serie di membrane piegate una sull'altra a formare cisterne, mentre il termine "granulare" si riferisce al fatto che il versante citoplasmatico delle sue membrane è ricco di ribosomi. Compito del ribosoma è quello di sintetizzare le proteine tramite il processo della "sintesi proteica". Una volta formata la proteina, questa viene impacchettata in una membrana (gemmazione della vescicola di transizione) che, trovata nel citoplasma può fuoriuscire dalla cellula (esocitosi), o sostare nel citoplasma, o andare nell'apparato di Golgi dove verrà modificata.

2. L'apparato di Golgi (G): è formato da cisterne membranose appiattite, impilate le une sulle altre. E' in pratica un centro di produzione, immagazzinamento, smistamento e spedizione, in cui i prodotti del reticolo endoplasmico granulare sono modificati, immagazzinati, e inviati ad altre destinazioni. Il passaggio delle sostanze dal reticolo endoplasmico granulare all'apparato di Golgi avviene tramite delle vescicole di trasporto.

Per quanto riguarda il nostro contesto, il suo ruolo è essenziale nella modificazione e/o sintesi di glicoproteine, polisaccaridi (acido ialuronico e altri glicosamminoglicani) e proteoglicani che vengono liberati direttamente dai fibroblasti nella matrice extracellulare andando a costituire la sostanza intercellulare amorfa del connettivo.

Grazie all'azione combinata di diverse strutture, il fibroblasto attiva il processo di biosintesi del collagene. Tramite la sintesi proteica dei ribosomi del reticolo endoplasmico granulare si formano delle catene che si avvolgono, a gruppi di tre, formando una tripla elica stabilizzata da appositi legami chimici: il procollagene. Questo, attraverso delle vescicole di trasporto, arriva all'apparato di Golgi dove viene completata la glicosilazione e da qui, attraverso vescicole

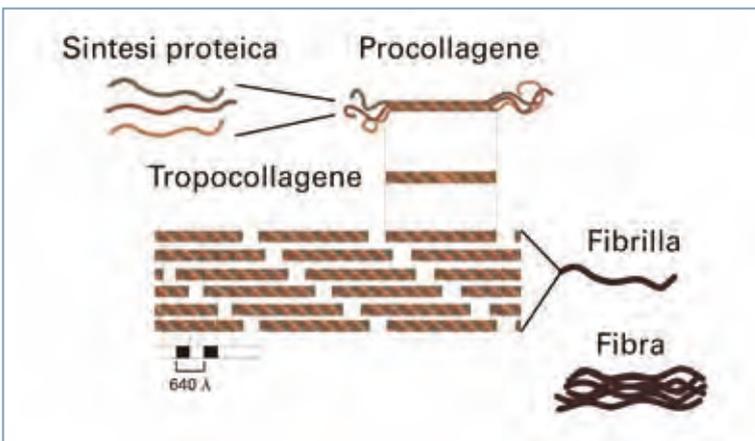


Fig. 3.18 - Schema riassuntivo della biosintesi del collagene.

di secrezione, la molecola viene veicolata all'esterno della cellula dove sono rimossi i residui terminali, trasformando così il procollagene in tropocollagene^[2].

In opportune condizioni ambientali le molecole di tropocollagene si dispongono in file parallele a formare fibrille. Infine, le fibrille possono essere organizzate in linee parallele o ondulate, in modo da formare delle fibre che, a loro volta, formano dei fasci (figura 3.18).

In realtà, affinché questo processo sia portato a termine in modo corretto è fondamentale il ruolo della componente amorfa. Solo con la corretta e calibrata composizione della sostanza fondamentale amorfa si rende possibile l'aggregazione delle molecole di tropocollagene per formare una struttura altamente organizzata com'è una fibrilla di collagene. Il fibroblasto ha quindi il duplice ruolo di produrre sia i "mattoni" che servono a formare le fibre di collagene (ovvero le molecole di tropocollagene), sia il "collante" che serve a posizzarli e strutturarli in modo corretto (ovvero i costituenti fondamentali della componente amorfa come acido ialuronico, glicosamminoglicani e proteoglicani). (figura 3.19)

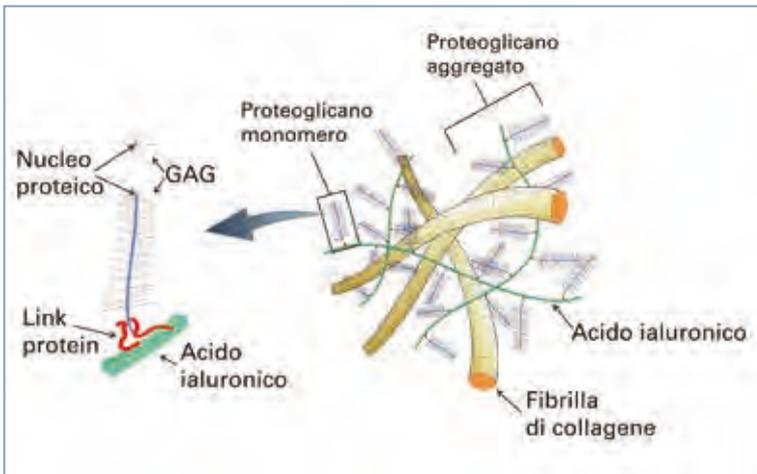


Fig. 3.19 - Rappresentazione schematica della struttura tridimensionale della matrice extracellulare costituita da una componente fibrosa (collagene) e da una componente amorfa.

La mucosa in menopausa, presenta una condizione particolare con fibrociti metabolicamente quiescenti, al posto dei fibroblasti, incapace quindi di produrre attivamente acido ialuronico e le altre molecole necessarie per avere una componente amorfa glicoproteica adeguata. Ne risulta quindi una mucosa secca, meno imbibita, meno nutrita e quindi fragile e più soggetta a infezioni. Con uno scarso contenuto di acqua nel connettivo, infatti verosimilmente, sia i nutrimenti, sia le difese linfocitarie che arrivano nella lamina propria attraverso i vasi sanguigni, hanno maggiore difficoltà a migrare attraverso la matrice connettivale per arrivare fino all'epitelio, sede dell'attacco da parte degli agenti infettivi.

Scopo del trattamento per l'atrofia vaginale è quindi quello di riuscire a promuovere e recuperare l'attività metabolica premenopausale attraverso una nuova sintesi non solo di collagene ma anche di acido ialuronico, glicosamminoglicani e proteoglicani, riottenendo in questo modo una mucosa idratata quindi turgida e con tutte le funzionalità proprie di un tessuto sano e più giovane.

In base agli obiettivi sopra illustrati, dobbiamo vedere se è possibile avere un'evidenza dell'attività dei fibroblasti, nonostante il breve tempo intercorso tra il trattamento e la fissazione dei campioni. Sempre con l'ausilio del microscopio elettronico sono state analizzate immagini relative al reticolo endoplasmatico granulare e all'apparato del Golgi in cellule dell'area al di sotto della fascia di denaturazione del collagene.

La figura 3.20 mostra in dettaglio l'aspetto del reticolo endoplasmatico rugoso di una di queste cellule.

Il citoplasma della cellula risulta essere particolarmente ricco di cisterne del reticolo endoplasmatico granulare.

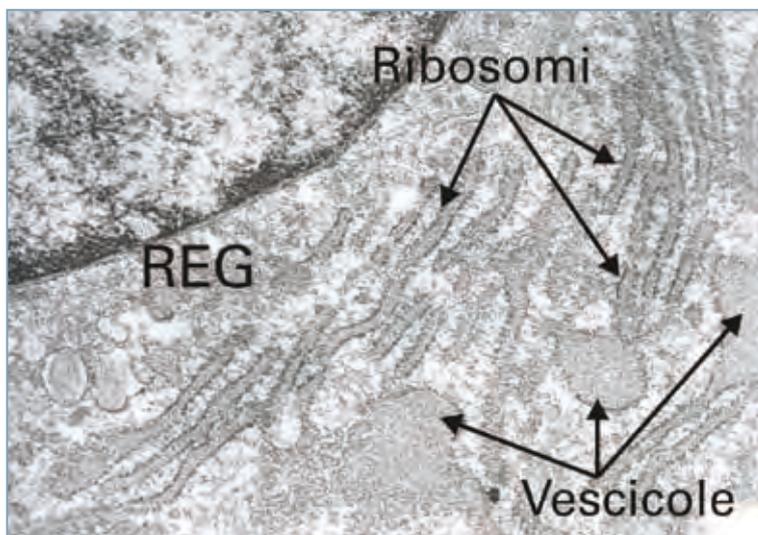


Fig. 3.20 - Immagine al microscopio elettronico dell'interno di un fibroblasto nella regione a circa 500-600 μm sotto la fascia di denaturazione del collagene. Il Reticolo Endoplasmatico Granulare (REG) è ben sviluppato con numerosi ribosomi attaccati alle membrane delle cisterne appiattite. Alcune di queste cisterne sviluppano nella parte terminale delle vescicole al cui interno si possono osservare strutture filamentose.

Queste strutture appaiono costituite da membrane delimitanti la cavità, alla superficie citoplasmatica delle quali aderiscono numerosi ribosomi (responsabili della sintesi delle proteine). Le cisterne del reticolo contengono un materiale fioccoso, finemente filamentoso. A differenza del tipico aspetto laminare, a scarso contenuto di materiale, caratteristico di cellule relativamente quiescenti (i fibrociti), le cisterne si presentano spesso dilatate alle estremità in strutture vescicolose ricche di contenuto microfilamentoso. Questo aspetto citoplasmatico è associato ad altre caratteristiche morfologiche tipiche dei fibroblasti attivi, il che suggerisce uno stato di stimolazione metabolica funzionale in stretta relazione con la sintesi di proteine. Verosimilmente, il materiale finemente filamentoso presente in rilevante quantità all'interno delle cisterne del reticolo endoplasmatico granulare rappresenta

infatti le strutture molecolari elementari di procollagene, precursori destinati a essere riversati nella matrice extracellulare per costituire le fibrille elementari collagene la cui formazione per assemblaggio ordinato di molecole di tropocollagene è tipicamente extracellulare e condizionato dalla composizione molecolare della matrice amorfa.

Un altro aspetto peculiare osservato nei fibroblasti dei campioni esaminati, che può essere messo in relazione alle osservazioni sul reticolo endoplasmatico rugoso e all'attivazione dei fibroblasti nella neofibrillogenesi, è la presenza di un esteso apparato di Golgi (figura 3.21), costituito da membrane che formano delle cisterne lisce e piatte, organizzate parallelamente le une alle altre, e

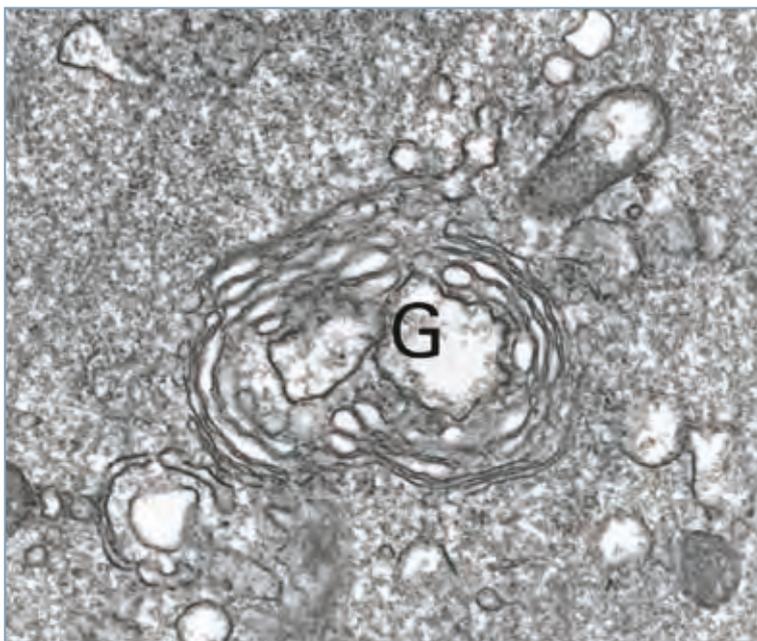


Fig. 3.21 - Immagine al microscopio elettronico dell'interno di un fibroblasto nella regione a circa 500-600 μm sotto la fascia di denaturazione del collagene. Anche l'apparato del Golgi (G) è ben sviluppato. Si evidenziano vescicole che, verosimilmente, contengano i componenti che andranno a formare la matrice amorfa.

spesso dilatate con numerose vescicole associate. Questo aspetto ultrastrutturale è correlabile con una intensa attività funzionale orientata alla sintesi di glicoproteine, glicosaminoglicani e proteoglicani, ovvero i costituenti della componente amorfa della matrice.

Gli aspetti morfologici ora descritti sono tutti ascrivibili a una condizione con fibroblasti attivati.

3.5.3 Discussione

Nelle condizioni sperimentali dello studio presentato in questo paragrafo l'aspetto importante risulta essere l'attivazione funzionale dei fibroblasti della mucosa vaginale.

Gli aspetti ultrastrutturali rilevati (come l'esteso reticolo endoplasmatico granulare con membrane disposte a delimitare cisterne dilatate, ricche di ribosomi e a contenuto denso e filamentoso, e l'apparato del Golgi ad ampie cisterne in stretto rapporto con una considerevole quantità di vescicole) rappresentano una chiara evidenza di una intensa attività di sintesi di proteine da parte del reticolo endoplasmatico granulare. Verosimilmente si tratta dei precursori proteici delle fibre collagene nonché delle proteine destinate a legarsi ai polisaccaridi della sostanza amorfa della matrice per costituire complessi macromolecolari molto ricchi di siti polari. In stretta correlazione con le osservazioni appena fatte, sono da rilevare gli aspetti ultrastrutturali relativi all'apparato del Golgi che dimostrano un significativo incremento dell'attività di sintesi anche dei componenti della sostanza amorfa della matrice e della glicosilazione delle proteine. Dalla loro composizione dipende infatti il corretto assemblaggio delle molecole di tropocollagene in fasci compatti per costituire fibre a elevate caratteristiche fisiche e meccaniche, così

importanti per assicurare un adeguato sostegno alla parete dell'organo interessato dal trattamento.

I meccanismi biochimici alla base di questi fenomeni chiaramente rigenerativi sono da ricondurre allo specifico effetto termico causato dall'irraggiamento col laser CO₂ frazionato *SmartXide² V²LR*, per le sue particolari caratteristiche di emissione che permettono di trasferire il carico energetico alla mucosa evitando eccessivi danni termici localizzati. La lunghezza d'onda del laser a CO₂ è assorbita dalle molecole d'acqua presenti in grande abbondanza nella matrice amorfa. L'acqua, libera o legata con legami ionici ai residui di carica negativa dei polisaccaridi e delle glicoproteine, subisce quindi un aumento di temperatura che induce nei fibroblasti l'attivazione di uno specifico chaperon del collagene, la *Heath Shock Protein 47 (HSP47)*, promuovendo così l'attività funzionale dei fibroblasti con rinnovata attività di sintesi del collagene.

I dati qui esposti relativi agli effetti dell'utilizzazione del laser CO₂ frazionato *SmartXide² V²LR* non solo dimostrano l'efficacia di questa metodologia ma consentono anche di comprendere i meccanismi cellulari e molecolari elementari che stanno alla base del rinnovamento dei tessuti, determinando i miglioramenti strutturali necessari per il recupero del trofismo e della piena funzionalità delle strutture di sostegno delle pareti vaginali.

3.6 IMPLICAZIONI PRATICHE SUI SINTOMI DELL' ATROFIA VAGINALE

Nel primo capitolo di questo libro avevamo visto come il declino degli estrogeni in menopausa fosse strettamente correlato ad alterazioni della morfologia dell'epitelio della mucosa, alla riduzione del flusso sanguigno, della secrezione del fluido vaginale e all'aumento del pH collegato alla diminuzione dei lattobacilli vaginali. A seguito dei risultati ottenuti nello studio appena illustrato, è interessante soffermarci sulle ricadute "pratiche" che ci possiamo aspettare in funzione dei miglioramenti strutturali indotti dal trattamento *MonnaLisa Touch™*.

Com'è stato spiegato nei precedenti paragrafi, ripristinare la corretta composizione della matrice extracellulare (dove le fibre di collagene sono posizionate all'interno della sostanza amorfa con un adeguato contenuto di acqua) permette di ristabilire la giusta permeabilità del connettivo consentendo quindi il fisiologico trasferimento delle varie sostanze nutritive dai capillari ai tessuti. Quando questa dinamica è compromessa, in presenza di atrofia della mucosa, l'epitelio (che è privo di vasi al suo interno) non riceve nutrimento, quindi "deperisce" e si assottiglia, con tutte le problematiche presentate nel primo capitolo.

E' dunque evidente come l'effetto prodotto dal trattamento *MonnaLisa Touch™* possa portare un reale beneficio al tessuto epiteliale, ripristinandone il corretto trofismo. Si osservi inoltre che nel sangue, oltre alle sostanze nutritive, continua a circolare una certa quantità di estrogeni che, seppur in concentrazione minore rispetto all'età pre-menopausica, sono prodotti da altri organi del corpo femminile. Col ripristino di un'adeguata irrorazione dell'epitelio, questo seppur piccolo contributo arriva comunque a destinazione.

Per quanto riguarda il problema della “secchezza” vaginale, anche questa è principalmente riconducibile al ridotto trofismo generale ascrivibile alla limitata circolazione periferica e, soprattutto, alla minore idratazione derivante dalla scarsa attività dei fibroblasti, che porta ad avere una matrice amorfa meno turgida perché meno idratata. Grazie invece alla giusta composizione della sostanza fondamentale prodotta dai fibroblasti, l’acqua portata dai capillari può essere mantenuta in sede, reidratando i tessuti. Le problematiche correlate alla sensazione di prurito e bruciore, dovute alla secchezza vaginale, vengono quindi risolte restaurando una corretta idratazione della mucosa.

Il problema della ridotta secrezione del fluido vaginale, spesso associato a dispareunia (dolore durante i rapporti sessuali), richiede un maggiore approfondimento. Nel corso degli anni, molti autori hanno formulato diverse ipotesi relativamente alla principale fonte di lubrificazione vaginale. Grande importanza veniva data al ruolo delle ghiandole vestibolari maggiori (o del Bartolino) e di quelle di Skene, situate nei genitali esterni, che liberano il secreto in corrispondenza delle piccole labbra. Studi condotti da Master e Johnson^{[3], [4]}, sostengono invece che la lubrificazione sia dovuta a secrezioni prodotte più a monte nella vagina. Ad oggi si può affermare che la lubrificazione vaginale è mediata da complessi fenomeni neuro-vascolari e biochimici, solo in parte compresi^[5]. E’ 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^[6]. Questo consente 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^[7]. Questo determina l'incremento della quota di trasudato presente tra le cellule dell'epitelio vaginale che satura la capacità di riassorbimento, riversandosi così nel lume vaginale. Con l'insorgere dell'atrofia vaginale la quantità di trasudato vaginale si riduce fortemente. Se consideriamo gli stessi meccanismi illustrati per spiegare il ripristino della struttura dell'epitelio è facilmente comprensibile come possa agire il trattamento *MonnaLisa Touch™* per favorire la produzione di trasudato vaginale. Per quanto riguarda le ghiandole vestibolari, il cui ruolo è molto controverso, traggono comunque beneficio dal trattamento della mucosa vaginale alla quale sono attigue. Inoltre un trattamento locale specifico, con laser CO₂ frazionato *SmartXide²V²LR*, potrebbe stimolarne il recupero funzionale così come avviene per la mucosa vaginale.

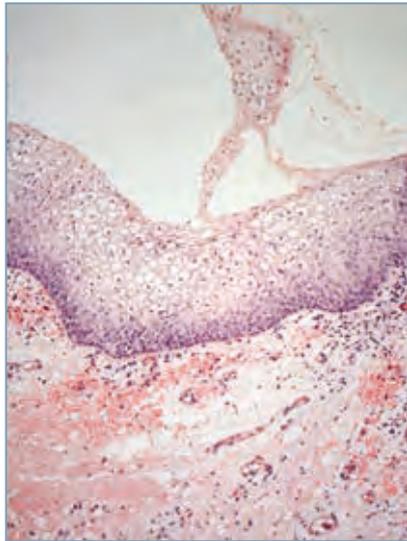


Fig. 3.22 - Preparazione istologica della mucosa vaginale colorata con ematossilina e eosina (H&E). Mucosa vaginale in età fertile. Si osserva il distacco superficiale di cellule epiteliali ricche di glicogeno. [Per gentile concessione del Prof. A. Calligaro Università di Pavia].

Infine vediamo le ultime considerazioni relative all'aumento del pH. Nella donna in età fertile, durante la fase follicolare del ciclo ovarico, le cellule dell'epitelio vaginale sintetizzano e accumulano glicogeno man mano che migrano verso la superficie dove si staccano per desquamazione (figura 3.22).

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 microorganismi patogeni. Con la menopausa, l'epitelio e la sottostante lamina propria connettivale vanno incontro ad atrofia, diminuisce il glicogeno nelle cellule epiteliali e di conseguenza diminuiscono i lattobacilli che vivono di glicogeno e sono responsabili del mantenimento del pH acido. Ancora una volta possiamo fare le consuete considerazioni relative al recuperato trofismo della mucosa vaginale, che comporta anche un aumento del glicogeno cellulare e può favorire una ricolonizzazione dei lattobacilli vaginali e il ripristino dell'acidità.

3.7 UTILIZZO DEL LASER CO₂ NEL TRATTAMENTO DELL' ATROFIA VAGINALE

Sulla base dei risultati innovativi ottenuti nel corso dello studio preliminare e descritti nei paragrafi precedenti, abbiamo programmato un nuovo studio clinico su 50 pazienti affette da atrofia vaginale, al fine di valutare l'esito del trattamento *MonnaLisa Touch™* lungo un arco temporale più ampio e di quantificare i miglioramenti.

In base ai criteri di inclusione stabiliti per lo studio, la selezione delle pazienti è stata svolta secondo le caratteristiche e/o i sintomi seguenti:

- Sintomi di VVA (sintomi più fastidiosi di secchezza vaginale e/o dispareunia classificata come moderata/severa);
- Età > 50 anni;
- Amenorrea ≥ 12 mesi;
- Mancata risposta o insoddisfazione rispetto a pregresse terapie locali a base di estrogeni.

I criteri di esclusione sono stati i seguenti:

- Assunzione di qualsiasi terapia di sostituzione ormonale (sistemica o locale) nei 6 mesi precedenti l'inclusione nello studio;
- Uso di idratanti vaginali, lubrificanti o altri preparati locali nei 30 giorni precedenti l'inclusione nello studio;
- Infezioni del tratto urinario acute o ricorrenti;
- Infezioni genitali attive (ad es. herpes genitale, candida);
- Prolasso di stadio \geq Il secondo il sistema *POP-Q di quantificazione del prollasso degli organi pelvici (Pelvic Organ Prolapse Quantification system) elaborato dall'ICS (International Continence Society)*;
- Pregressa chirurgia di ricostruzione pelvica;
- Qualunque patologia grave o condizione cronica che possa interferire con la compliance dello studio;
- Disturbi psichiatrici tali da precludere il consenso informato.

È stato eseguito un ciclo di tre trattamenti sulle pareti vaginali utilizzando il sistema a laser CO₂ frazionale SmartXide², mediante l'inserimento di sonde progettate appositamente per questo scopo specifico (grazie al sistema di scansione Hi-Scan V²LR), su pazienti in età menopausale con atrofia vaginale evidente. Il lavoro prevedeva l'arruolamento, il follow-up e la raccolta dei dati dopo ciascuna delle quattro sedute programmate, come pure due analisi intermedie, una a settembre 2012 e una a maggio 2013. Il protocollo adottato è quello rivelatosi più efficace nel corso dello studio preliminare descritto nel paragrafo 3.5. I punti temporali dello studio corrispondono al baseline (T1), alla settimana 4 (T2), alla settimana 8 (T3) e alla settimana 12 (T4), 4 settimane dopo l'ultima applicazione del laser. Gli

esami istologici e microstrutturali sono stati condotti su 5 pazienti prima (condizioni basali) e a distanza di uno e due mesi dopo il primo trattamento.

Ai fini della valutazione clinica, sono stati utilizzati strumenti oggettivi e soggettivi, per confrontare le condizioni basali delle pazienti con le condizioni dopo ogni follow-up. Più in dettaglio:

- Una scala visiva analogica (VAS) da 1 a 10 per tutti i sintomi di atrofia vaginale (lassità, secchezza, irritazione o prurito e dispareunia);
- L'indice di salute vaginale (Vaginal Health Index - VHI) proposto da G. Bachmann^{[8], [9]}, che prevede la valutazione dei diversi segni dell'atrofia vaginale e assegna una classificazione finale;
- Il PISQ-12 (*Pelvic Organ Prolapse/Urinary Incontinence Sexual Function Questionnaire*), un questionario per la valutazione della funzione sessuale nelle donne con prolasso degli organi pelvici e/o incontinenza urinaria;
- La misurazione del pH vaginale;
- Un questionario generico sulla qualità di vita della paziente (SF12);
- Una scala Likert^[10] denominata "Patient Perception of Improvement", per la valutazione della percezione del miglioramento da parte della paziente in seguito al trattamento.

3.7.1 Valutazione dei risultati clinici

Nell'ambito della valutazione oggettiva, abbiamo analizzato la variazione dei valori medi per il punteggio complessivo dell'indice di salute vaginale (tabella 3.1).

Punteggio*	Elasticità complessiva	Tipo e consistenza della secrezione vaginale	pH	Mucosa epiteliale	Idratazione
1	Assente	Assente	≥ 6.1	Petecchie osservate prima del contatto	Assente; mucosa infiammata
2	Scarsa	Scarsa, giallo filamentoso	5.6-6.0	Sanguinamento con un leggero contatto	Assente, mucosa non infiammata
3	Discreta	Superficiale, bianco filamentoso	5.1-5.5	Sanguina se raschiata	Minima
4	Adeguate	Moderata, bianco filamentoso	4.7-5.0	Mucosa sottile, non friabile	Moderata
5	Eccellente	Normale (bianco flocculento)	≤4.6	Mucosa normale, non friabile	Normale

Tab. 3.1:Indice della salute vaginale di Gloria Bachman (VHI). *:Un punteggio minore corrisponde a una maggiore atrofia urogenitale.

L'analisi non prende in considerazione le variazioni nell'acidità vaginale (pH) in quanto i test con cartina al tornasole si sono rivelati inadeguati per tale scopo. I valori medi dell'indice VHI nelle pazienti che hanno portato a termine lo studio hanno avuto le seguenti variazioni: 8,6, 12,4, 14,5 e 14,5 di nuovo alla baseline e rispettivamente dopo ciascuno dei tre trattamenti singoli. Questa tendenza conferma i cambiamenti trofici nel canale vaginale osservati nelle pazienti trattate.

La tabella 3.2 e la figura 3.23 dimostrano le variazioni nei valori medi per ogni sintomo di atrofia vaginale alla baseline e dopo ciascuno dei tre trattamenti singoli:

	Baseline	Dopo 1 SEDUTA	Dopo 2 SEDUTA	Dopo 3 SEDUTA
Brucciore vaginale	5,1	2,3	1,9	0,8
Prurito vaginale	4,8	1,9	1,9	0,7
Secchezza vaginale	8,4	4,4	3,4	2
Dispareunia	8,5	4,1	3	2,4
Lassità vaginale	1	0,6	0,4	0,1

Tab. 3.2: Valori medi di VAS per i principali sintomi dell'atrofia vaginale.

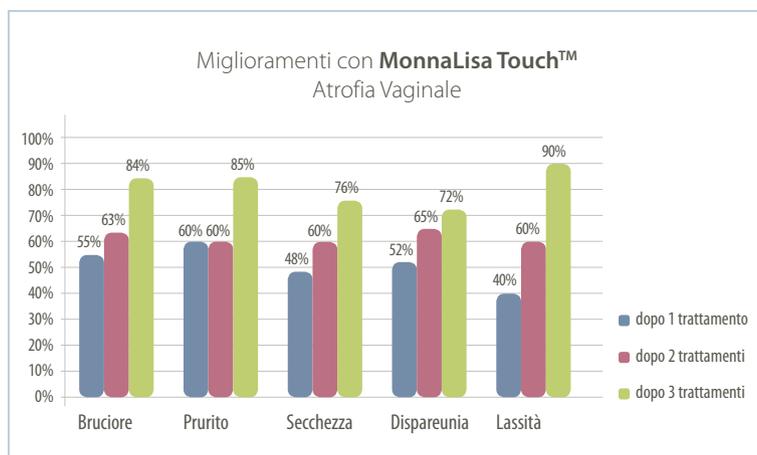


Figure 3.23: Miglioramento (%) dei principali sintomi dell'atrofia vaginale dopo 3 trattamenti con MonnaLisa Touch™.

Le variazioni nei sintomi urinari, espresse in valori medi, alla baseline e dopo tre trattamenti, sono riportate nella tabella 3.3 e nella figura 3.24:

	Baseline	Dopo 3 SEDUTE
Disuria	1,3	0,4
Urgenza minzionale	2,6	0,8
Incontinenza da urgenza	1,6	0,7
Incontinenza urinaria da sforzo	3,1	1,3

Tab. 3.3: Valori medi di VAS per i principali sintomi urinari prima e dopo 3 trattamenti *MonnaLisa Touch™*.

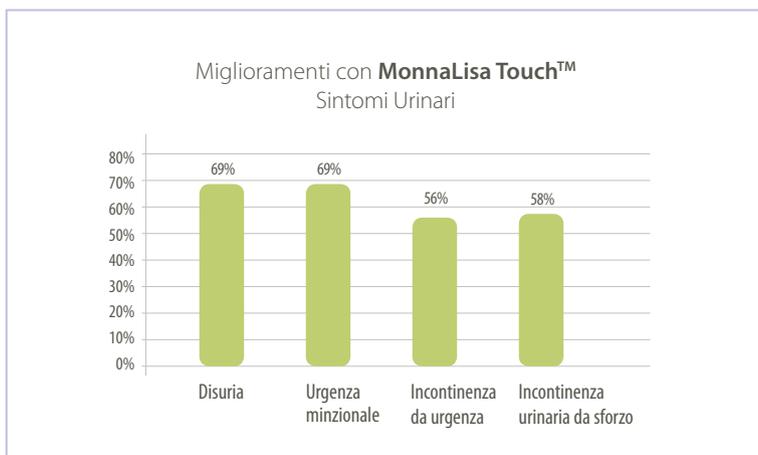


Figure 3.24: Miglioramento (%) dei principali sintomi dell'incontinenza urinaria dopo 3 trattamenti di *MonnaLisa Touch™*.

Il presente studio pilota ha dimostrato per la prima volta che il trattamento laser *MonnaLisa Touch™* è efficace contro l'atrofia vaginale nelle pazienti in età menopausale.

Infatti, i risultati dello studio hanno rivelato che un ciclo di trattamento di tre applicazioni laser è in grado di alleviare in modo significativo i sintomi più fastidiosi dell'atrofia urogenitale e di migliorare notevolmente i punteggi dell'indice di salute vaginale a 12 settimane di follow-up. L'effetto positivo sui sintomi era già evidente dopo la prima applicazione laser, e si è intensificato al termine del periodo dello studio, durante il quale è stato osservato anche un miglioramento significativo, rispetto alla baseline, dei punteggi sulla qualità della vita, sia a livello fisico che mentale.

3.7.2 Valutazione dei risultati istologici (da esami al microscopio e ultrastrutturali)

Come accennato nel paragrafo precedente, gli esami istologici sono stati condotti su 5 pazienti prima del trattamento e a distanza di uno e due mesi dopo il primo trattamento.

Nelle figure 3.25, 3.26, 3.27 e 3.28 si può osservare il confronto tra alcune immagini relative alla mucosa vaginale di una paziente prima dell'inizio del trattamento e un mese dopo la prima seduta con il metodo *MonnaLisa Touch™*.

La valutazione di questi esami istologici mette in evidenza che dopo il trattamento:

- la mucosa appare ben alimentata, con papille tridimensionali estese e altamente vascolarizzate;
- il glicogeno nelle cellule epiteliali è chiaramente aumentato ed è presente in grandi quantità rispetto alla condizione iniziale;
- la matrice extracellulare (fibre di collagene e sostanza amorfa) è aumentata e presenta numerosi fibroblasti chiaramente identificabili.

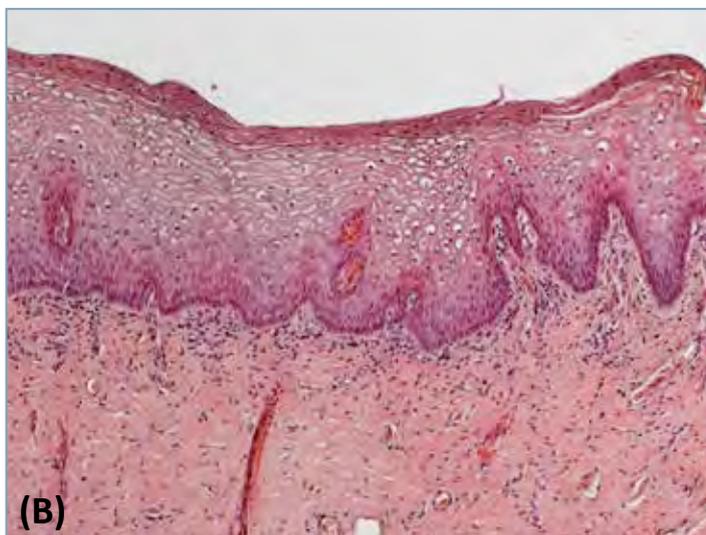
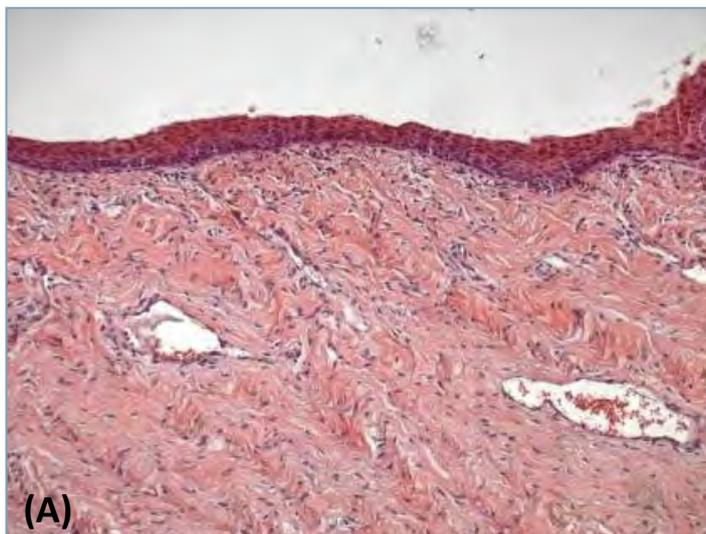


Fig. 3.25 - Preparazioni istologiche di una sezione della mucosa vaginale colorata con ematossilina ed eosina (H&E). (A): Mucosa vaginale nella condizione basale. Questa immagine morfologica indica un'atrofia vaginale ad uno stadio avanzato, con un epitelio costituito da pochi strati cellulari e assenza di papille. (B): Mucosa vaginale della stessa paziente un mese dopo la prima seduta di trattamento *MonnaLisa Touch*TM. Il maggiore ispessimento dell'epitelio e il diametro maggiore delle cellule epiteliali ricche di glicogeno mettono in evidenza il trofismo metabolico ripristinato e le dinamiche di tutto l'epitelio.

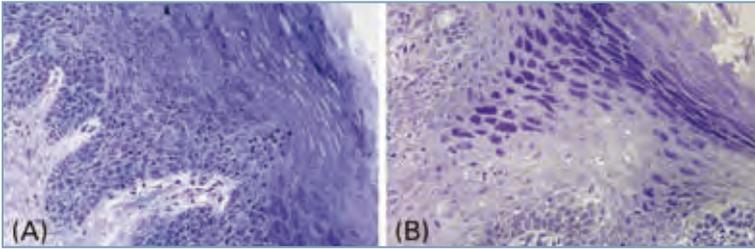


Fig. 3.26 - Campioni istologici fissati in miscela paraformaldeide/glutaraldeide, inclusi in resina epossidica e colorati con blu di toluidina. (A): mucosa vaginale in condizione basale. (B): Mucosa vaginale della stessa paziente a un mese da una seduta di trattamento *MonnaLisa Touch*. E' evidente uno specifico immagazzinamento e rilascio di glicogeno nell'epitelio della mucosa. Da rimarcare anche l'assenza di leucociti nell'epitelio.

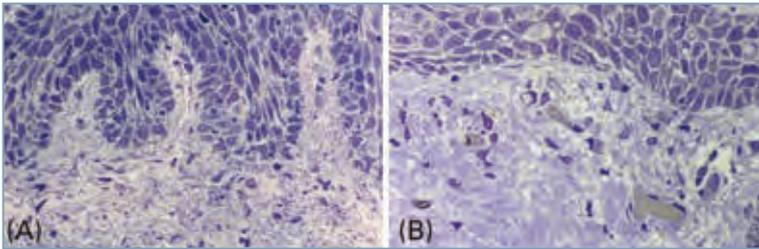


Fig. 3.27 - Campioni istologici fissati in miscela paraformaldeide/glutaraldeide, inclusi in resina epossidica e colorati con blu di toluidina. (A): mucosa vaginale in condizione basale. (B): Mucosa vaginale della stessa paziente a un mese da una seduta di trattamento *MonnaLisa Touch*TM. Si osserva un aumento della matrice connettivale (fibre e sostanza amorfa) con la presenza di numerosi fibroblasti.

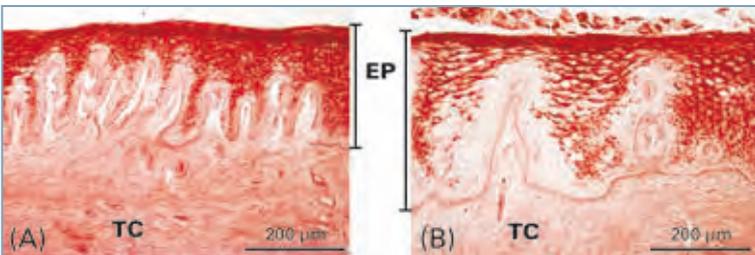


Fig. 3.28 - Preparazione istologica della mucosa vaginale con colorazione PAS. (A): mucosa vaginale in condizione basale. Lo strato superficiale dell'epitelio è composto da cellule piccole, compatte e vicine tra loro. (B): Mucosa vaginale della stessa paziente a un mese da una seduta di trattamento *MonnaLisa Touch*TM. Si osserva un maggiore spessore dell'epitelio (EP) e ampie colonne di larghe cellule epiteliali ricche di glicogeno (colore rosso). Nello strato superficiale è riscontrabile una desquamazione di cellule larghe, ricche di glicogeno. Rispetto all'immagine (A) è inoltre evidente una migliore organizzazione della struttura del tessuto connettivo (TC) sia nella lamina propria che nel core delle papille.

N.B.: Le immagini della figura 3.25 mostrano i risultati relativi a una delle cinque pazienti che ci hanno autorizzato a prelevare un campione di tessuto della mucosa vaginale da sottoporre ad indagini istologiche. L'appendice A mette a confronto i risultati istologici prima e dopo il trattamento iniziale per tutte e 5 le pazienti sottoposte allo studio.

Come descritto nel paragrafo 3.5.2, il secondo studio prevedeva un'analisi approfondita dei campioni istologici al microscopio elettronico. Lo scopo era quello di confermare i cambiamenti osservati durante lo studio preliminare mettendo a confronto le immagini alla baseline con le immagini scattate due mesi dopo l'inizio del trattamento. I risultati sono rappresentati nelle figure che seguono.



Fig. 3.29 - Microscopio elettronico a trasmissione. Fibrocita da mucosa vaginale atrofica prima del trattamento.

La figura 3.29 mostra un fibrocita proveniente da una mucosa atrofica prima del trattamento. Il corpo cellulare del fibrocita, in cui è contenuto il nucleo, è estremamente piccolo e si dirama in sottili prolungamenti citoplasmatici che si infiltrano tra i fasci di fibre di collagene nella matrice extracellulare formando legami stretti con i prolungamenti citoplasmatici di altri fibrociti. Si viene così a creare una situazione "statica" in cui il ricambio strutturale e funzionale della matrice risulta

altamente ridotto o totalmente assente. Si osservano le ridotte dimensioni del corpo cellulare e l'assottigliamento dei processi citoplasmatici, che appaiono estremamente poveri di organuli. I profili del reticolo endoplasmatico rugoso (dove avviene la sintesi delle proteine che costituiscono le fibre di collagene e delle proteine associate ai componenti molecolari della sostanza amorfa) appaiono assai ridotti o assenti, come pure il complesso di Golgi. Si possono osservare i ribosomi, che aderiscono alla membrana nucleare esterna, con ribosomi sparsi nel citoplasma, prevalentemente isolati e raramente associati in complessi poliribosomiali. Il nucleo appare compatto, caratterizzato da dimensioni ridotte e da una densità di elettroni relativamente elevata (eterocromatina = DNA condensato e ampiamente inattivo dal punto di vista funzionale o trascrizionale). Non è stato possibile visualizzare il nucleolo di nessuno dei fibrociti osservati.

La figura 3.30 mostra un fibroblasto con ampio corpo cellulare nella lamina propria di una mucosa vaginale atrofica, della



Fig. 3.30 - Microscopio elettronico a trasmissione. Profilo citoplasmatico di un fibroblasto della mucosa vaginale della stessa paziente oggetto della figura 3.29, un mese dopo la seconda seduta con *MonnaLisa Touch™*.

stessa paziente oggetto della figura 3.29, un mese dopo la seconda seduta di trattamento. Sono visibili numerosi profili di RER, alcuni dilatati e contenenti un materiale costituito da sottili filamenti (precursori molecolari delle fibre di collagene). Si possono osservare anche quattro mitocondri ricchi di creste.

La figura 3.31 mostra l'ultrastruttura di un tipico fibroblasto attivato in una paziente un mese dopo la seconda seduta di trattamento *MonnaLisa Touch™*. Il micrografo elettronico

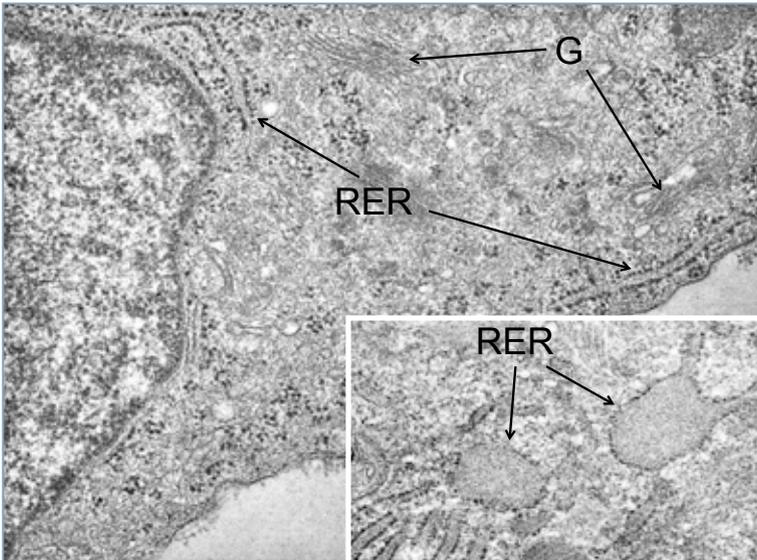


Figure 3.31 - Microscopio elettronico a trasmissione. Ultrastruttura di un fibroblasto attivato con un ben rappresentato apparato di Golgi e un reticolo endoplasmatico rugoso caratterizzato da cisterne dilatate (riquadro). L'immagine rappresenta una mucosa vaginale atrofica un mese dopo la seconda seduta di trattamento *MonnaLisa Touch™*.

mette in evidenza alcune caratteristiche tipiche: un ampio corpo cellulare con cisterne del reticolo endoplasmatico rugoso (RER) ben visibili, spesso dilatate a formare delle vescicole (riquadro), e un ben rappresentato apparato di Golgi (G).

Il nucleo (sinistra) mostra una ridotta densità di elettroni, dovuta alla dispersione della cromatina (eucromatina) che facilita l'attività trascrizionale associata alla sintesi dei precursori molecolari del collagene a livello del RER.



Fig. 3.32 - Microscopio elettronico a trasmissione. Interno di un fibroblasto della mucosa vaginale un mese dopo la seconda seduta di trattamento *MonnaLisa Touch™* con laser CO₂.

Infine, la figura 3.32 mostra un dettaglio dell'interno di un altro fibroblasto della mucosa vaginale un mese dopo la seconda seduta di trattamento *MonnaLisa Touch™*. Il micrografo elettronico ad alto ingrandimento ha evidenziato:

- l'estensione del RER;
- la presenza, nelle cisterne delimitate dalla membrana, cui aderiscono dei ribosomi, di sottili strutture filamentose (i precursori molecolari del collagene);
- la presenza di cisterne altamente dilatate e ricoperte da poliribosomi, con le rispettive membrane a diretto contatto, e la membrana di profili confluenti di reticolo endoplasmatico rugoso.

3.8 MONNALISA TOUCH™: UNA TECNICA IN COSTANTE EVOLUZIONE

Gli eccellenti risultati descritti nei paragrafi che precedono sono stati il punto di partenza per esplorare l'autentico potenziale di questo metodo. Negli ultimi due anni, il trattamento *MonnaLisa Touch™* ha consolidato la propria posizione a livello globale (soprattutto in Europa, Russia, Brasile, Messico, Australia, Corea, Cina e Stati Uniti) con oltre 850 sistemi laser SmartXide² venduti (ad aprile 2015) ad ospedali, università e centri privati. Il numero delle pazienti trattate è ormai nell'ordine di centinaia di migliaia e il passaparola è inarrestabile sui social media e nei blog.



Fig. 3.33: Emissione dell'energia laser a 360 gradi in una sola volta con la sonda a 360 *MonnaLisa Touch™*.

A tutt'oggi, *MonnaLisa Touch™* rappresenta l'unico metodo descritto in riviste sottoposte a valutazione inter pares^{[11],[16]} (cfr. Appendice B), il che sottolinea l'importanza che DEKA ha sempre attribuito alla ricerca scientifica.

Inizialmente sviluppato per risolvere i problemi legati all'atrofia vaginale post-menopausale, *MonnaLisa Touch™* si sta rivelando estremamente utile ed efficace in molte altre situazioni.

Con tutte le problematiche che ne conseguono, infatti, la vaginite atrofica non è legata esclusivamente al naturale processo di invecchiamento. L'atrofia urogenitale è strettamente correlata alla riduzione della sintesi di estrogeni che può verificarsi in diversi momenti nella vita di una donna, come ad esempio:

- Menopausa precoce, che coincide con una perdita di attività prima dei 40 anni di età. Questa condizione può avvenire spontaneamente o può essere indotta da un intervento di ovariectomia bilaterale o di soppressione ovarica indotta da farmaci o radiazioni. Sebbene la menopausa precoce spontanea di norma possa essere trattata con una terapia ormonale, questo approccio è fortemente sconsigliato per le pazienti oncologiche che sono in menopausa per cause iatrogene.
- Insufficienza ovarica precoce (POF), che può presentarsi come condizione transitoria, con attività ovarica irregolare, o prolungarsi per anni. Quando la POF diventa una condizione permanente, è equivalente alla menopausa precoce. Non è sempre possibile identificare chiaramente le cause della POF, che può avere origini diverse (genetiche/ereditarie, iatrogene o legate a patologie autoimmuni, oppure a infezioni virali o batteriche). Anche uno stile di vita scorretto, con cattive abitudini alimentari al limite dell'anoressia, può compromettere il funzionamento delle ovaie nelle giovani donne ed è associato a una carenza cronica di estrogeni.
- Postparto, soprattutto in caso di allattamento. Questa condizione è transitoria, ma può causare un notevole disagio, con conseguenze sia fisiche sia psicologiche per molte donne e per i loro partner.

Oltre al trattamento dei problemi legati all'atrofia, attualmente *MonaLisa Touch™* viene utilizzato per:

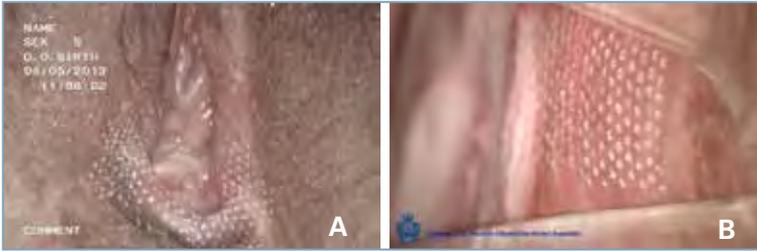


Fig. 3.34: Aspetto della vulva (A) e della vagina (B) immediatamente dopo il trattamento *MonnaLisaTouch™*. Si osservano i punti (DOT) sulla mucosa senza arrossamento o sanguinamento. [Per gentile concessione del Dott. M. Filippini e del Dott. M. Farinelli, Ospedale di Stato di San Marino, Repubblica di San Marino].

- trattare pazienti con dispareunia causata da trauma perineale in seguito a parto vaginale spontaneo, con episiotomia o strumentale;
- trattamento non chirurgico della lassità vaginale;
- incontinenza urinaria lieve.

Come illustrato nella figura 3.35, sono disponibili diversi manipoli, che consentono di trattare in modo rapido, sicuro ed efficace il canale vaginale, l'apertura vaginale e l'area vulvare e perineale, ottenendo un trattamento su misura in base alle esigenze di ogni paziente.



Fig. 3.35: La gamma completa delle sonde disponibili per HiScan V²LR. Semplicemente cambiando sonda, lo scanner può essere facilmente adattato a tutte le esigenze delle pazienti. (A): Emissione dell'energia laser a 360 gradi in una sola volta con la sonda vaginale ad angolo completo. Una versione monouso sarà disponibile a tempo debito. (B): Sonda vaginale chiusa a 90° con specchio singolo. Disponibile in 2 versioni con diametro diverso. (C): Sonda vaginale aperta a 90° con specchio singolo. (D): Terminale esterno per il trattamento dell'area vulvare e perineale.

3.8.1 Conclusioni

La procedura *MonnaLisa Touch™* non può più essere definita sperimentale, in quanto è ormai diffusa in tutto il mondo e si è già aggiudicata un posto tra i possibili rimedi contro gli effetti dell'atrofia vulvovaginale, indipendentemente dalla loro causa.

3.9 BIBLIOGRAFIA

1. Gaspar A, Addamo G, Brandi H. *Vaginal Fractional CO₂ Laser: A Minimally Invasive Option for Vaginal Rejuvenation*. Am J Cosm Surg: September 2011, Vol. 28, No. 3, pp. 156-162.
2. Stephens DJ. *Cell biology: Collagen secretion explained*. Nature vol. 482, 474–475 (23 February 2012).
3. Masters WH. *The sexual response cycle of the human female: vaginal lubrication*. Ann N. Y. Acad Sci 1959; 83:301.
4. Masters WH, Johnson V. *Human sexual response*. Little, Brown & Co. Boston, 1966.
5. Graziottin A, Rovei V, Scarselli GF. *Fisiologia della lubrificazione vaginale*. In: Jannini E.A. Lenzi A. Maggi M. (Eds), *Sessuologia Medica. Trattato di psicosessuologia e medicina della sessualità*. Elsevier Masson, Milano, 2007, pp. 117-119.
6. Girdali 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.
7. Giuliano F, Rampin O, Allard J. *Neurophysiology and pharmacology of female genital sexual response*. J Sex Marital Ther 2002, 28(Suppl 1): 101-121.

8. Bachmann G. *Urogenital ageing: an old problem newly recognized*. Maturitas. 1995 Dec;22 Suppl:S1-S5.
9. Bachmann GA. *A new option for managing urogenital atrophy in postmenopausal women*. Contemp Obstet Gynecol 1997; 42: 13-28.
10. Likert R. *Technique for the measure of attitudes*. Arch. Psycho., Vol. 22 N. 140. (1932).
11. S. Salvatore et al. *Histological study on the effects of microablative fractional CO₂ laser on atrophic vaginal tissue: an ex vivo study*. Menopause 2015 Jan 20. doi: 10.1097/GME.0000000000000401. [Epub ahead of print]
12. N. Zerbinati et al. *Microscopic and ultrastructural modifications of postmenopausal atrophic vaginal mucosa after fractional carbon dioxide laser treatment*. Lasers Med Sci 2015 Jan, Vol. 30, No. 1:429-36. doi: 10.1007/s10103-014-1677-2. Epub 2014 Nov 20.
13. A. Perino et al. *Vulvo-vaginal atrophy: A new treatment modality using thermo-ablative fractional CO₂ laser*. Maturitas 2014 Dec 25. doi: 10.1016/j.maturitas.2014.12.006. [Epub ahead of print]
14. S. Salvatore et al. *Sexual function after fractional microablative CO₂ laser in women with vulvovaginal atrophy*. Climacteric 2014 Dec 16. doi:10.3109/13697137.2014.975197 [Epub ahead of print]
15. S. Salvatore et al. *Microablative fractional CO₂ laser improves dyspareunia related to vulvovaginal atrophy: a pilot study*. Journal of Endometriosis and Pelvic Pain Disorders 2014. DOI:10.5301/je.5000184. Epub 2014 Jun 20.
16. S. Salvatore et al. *A 12-week treatment with fractional CO₂ laser for vulvovaginal atrophy: a pilot study*. Climacteric Aug 2014, Vol. 17, No. 4:363-369. doi: 10.3109/13697137.2014.899347. Epub 2014 Jun 5.

3.10 DEKA E AOGOI: INTERVISTA AL SEGRETARIO NAZIONALE AOGOI PROF. A. CHIÀNTERA

Nel Marzo del 2015 La metodica Monnalisa Touch è approvata dai Ginecologi Italiani AOGOI ed è l'unica ad avere pubblicazioni scientifiche su importanti riviste del settore. Questo importante riconoscimento viene espresso dal Prof. Antonio Chiantera, segretario nazionale AOGOI, tramite la seguente intervista:

1) MonnaLisa Touch diventa una terapia approvata AOGOI. Quali peculiarità avete riconosciuto determinanti per avviare questa collaborazione?

Durante la menopausa, con il cessare dell'attività ovarica, la donna deve affrontare un deficit di nutrimento da parte degli ormoni e le conseguenti problematiche. La tecnica laser MonnaLisa Touch ha senza alcun dubbio un validissimo effetto terapeutico, perché stimola la produzione di collagene, ringiovanisce le pareti della vagina ed esercita ed esercita un'azione di sostentamento del pavimento pelvico. Inoltre, questo innovativo laser ha un effetto esclusivamente locale stimolante e non presenta effetti collaterali, a differenza della tradizionale terapia a base di estrogeni. Il trattamento è indicato anche per le donne giovani, che sottoposte a radio o chemioterapia dopo cure oncologiche, si trovano in una condizione di menopausa indotta.

2) Come nasce la collaborazione tra l'associazione AOGOI e DEKA?

La collaborazione tra DEKA e AOGOI è motivata dalla condivisione degli stessi obiettivi e principi. La nostra associazione si pone il compito di tutelare la salute della donna e del suo bambino, quindi di sostenere la donna in tutte le fasi della sua vita: dall'adolescenza alla fase riproduttiva e poi dalla fase della menopausa fino alla terza

età. In particolare durante la menopausa, AOGOI intende supportare il desiderio legittimo di una serena attività sessuale della donna, sostenuto da un approccio terapeutico che le aziende, gli strumenti, le tecniche o i farmaci possono fornire. La terapia MonnaLisa Touch è un trattamento loco-regionale che consiste in una stimolazione termica, per favorire la produzione di sostanze proprie della parete vaginale e del pavimento pelvico e non ha alcun effetto collaterale. L'associazione AOGOI riconosce le caratteristiche uniche di questo laser e sostiene la sua efficacia, che è universalmente comprovata da ottimi risultati terapeutici.

3) Le donne in menopausa hanno difficoltà a parlare dei propri problemi. In quale maniera AOGOI sostiene il benessere femminile?

Nel corso degli anni abbiamo affrontato più volte le problematiche della donna legate alla menopausa, proprio perché voluto e motivato dal nostro statuto. Nello specifico, per 7 anni abbiamo monitorato circa 267mila donne nella terza età e sono stati riscontrati numerosissimi problemi fisici. Le nostre pazienti lamentavano soprattutto dolore nei rapporti sessuali, secchezza e incontinenza urinaria e definivano queste problematiche limitanti per la sfera sociale e la sfera affettiva. Oggi con l'allungamento della vita media, la donna vive oltre il 40% della sua esistenza in una fase di carenza ormonale per cessazione dell'attività ovarica. Questa situazione non può essere accettata, dobbiamo intervenire con gli strumenti più qualificati e meno nocivi possibili. Attualmente la laser terapia vaginale risulta essere il metodo più valido per gli effetti benefici a carico della parete vaginale e del pavimento pelvico, non è lesivo e non ci sono effetti negativi nell'organismo della donna.

APPENDICE A

Risultati istologici completi prima e dopo il trattamento.

Preparazioni istologiche di sezioni della mucosa vaginale colorata con ematossilina e eosina (H&E)

Per gentile concessione del Prof. A. Calligaro.

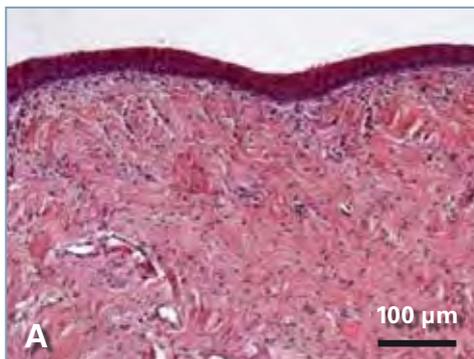
Professore di Istologia ed Embriologia all'Università di Pavia, Italia

Paziente 1 - sequenza A:

Età: 54

Età dell'ingresso in menopausa: 44 anni

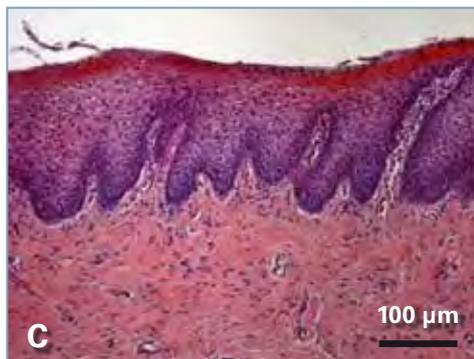
Nota: la paziente non ha mai fatto uso di TSO



(A) Mucosa vaginale in condizione basale con un epitelio più sottile, tipico della vaginite atrofica.



(B) La stessa paziente un mese dopo la prima seduta con *MonnaLisaTouch™*. È evidente l'ispessimento dell'epitelio della mucosa.



(C) La stessa paziente un mese dopo la seconda seduta con *MonnaLisaTouch™*. Si può osservare un ulteriore ispessimento dell'epitelio della mucosa.

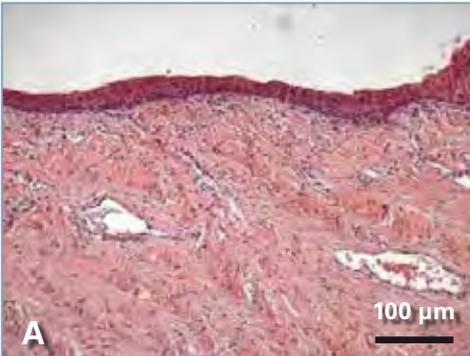
Immagini ingrandite 100x

Paziente 1 - sequenza B:

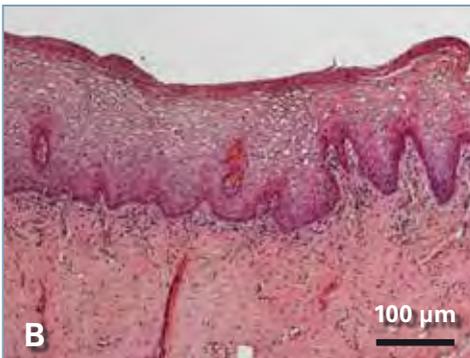
Età: 54

Età dell'ingresso in menopausa: 44 anni

Nota: la paziente non ha mai fatto uso di TSO



(A) Mucosa vaginale in condizione basale con un epitelio più sottile, tipico della vaginite atrofica.



(B) La stessa paziente un mese dopo la prima seduta con *MonnaLisaTouch™*. È evidente l'ispessimento dell'epitelio della mucosa.



(C) La stessa paziente un mese dopo la seconda seduta con *MonnaLisaTouch™*. Si può osservare un ulteriore ispessimento dell'epitelio della mucosa.

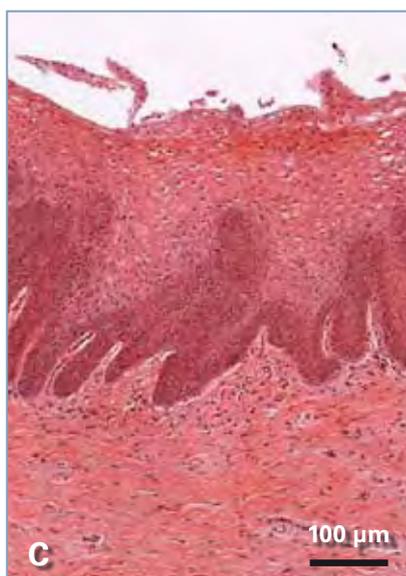
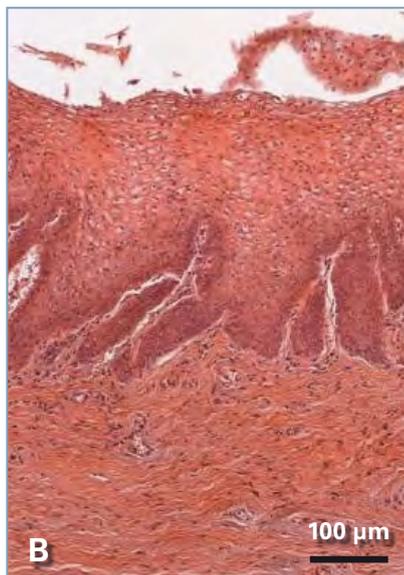
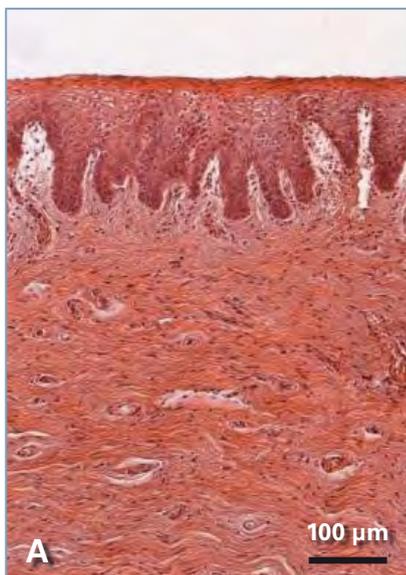
Immagini ingrandite 100x

Paziente 2:

Età: 59

Età dell'ingresso in menopausa: 48 anni

Nota: la paziente non ha mai fatto uso di TSO



(A) Mucosa vaginale in condizione basale. Si possono osservare l'epitelio più sottile e la presenza di papille. Questa immagine morfologica indica un'atrofia vaginale ad uno stadio iniziale, in graduale evoluzione verso una condizione caratterizzata da un epitelio costituito da pochi strati cellulari e dall'assenza di papille.

La stessa paziente un mese dopo la prima seduta con *MonnaLisaTouch™* **(B)** e dopo la seconda seduta **(C)**. Il maggiore ispessimento dell'epitelio e la diffusione di numerose grandi cellule dalla superficie libera, unite al diametro maggiore delle cellule epiteliali ricche di glicogeno, mettono in evidenza il trofismo metabolico ripristinato e le dinamiche di tutto l'epitelio.

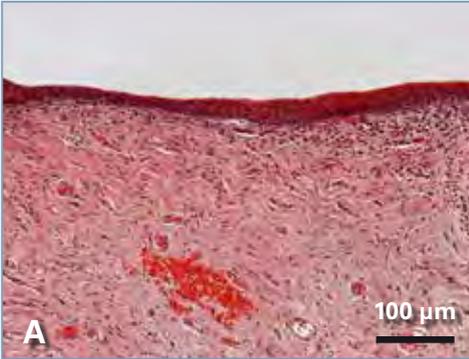
Immagini ingrandite 100x

Paziente 3:

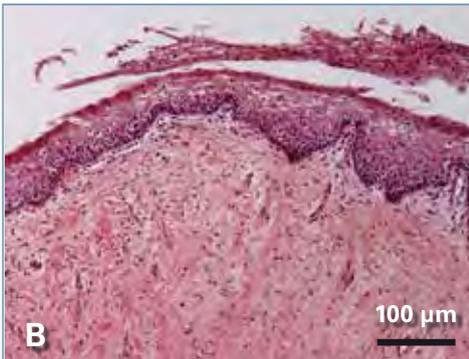
Età: 55

Età dell'ingresso in menopausa: 44 anni

Nota: La paziente non ha mai fatto uso di TSO; familiarità per cancro al seno.



(A) Mucosa vaginale in condizione basale con un epitelio più sottile, tipico della vaginite atrofica.



(B) La stessa paziente un mese dopo la prima seduta con *MonnaLisaTouch™*.



(C) La stessa paziente un mese dopo la seconda seduta con *MonnaLisaTouch™*. Si può osservare un evidente ispessimento dell'epitelio della mucosa, con la presenza di papille di nuova formazione nel tessuto connettivo.

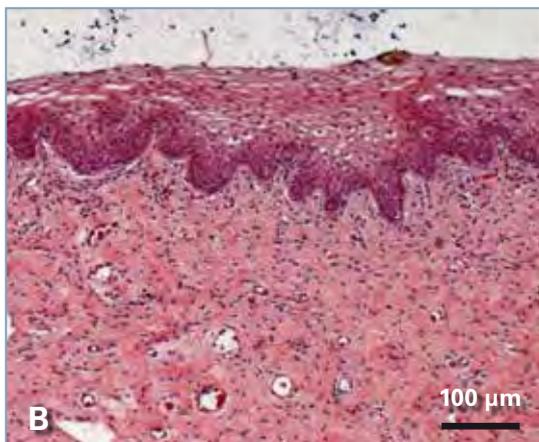
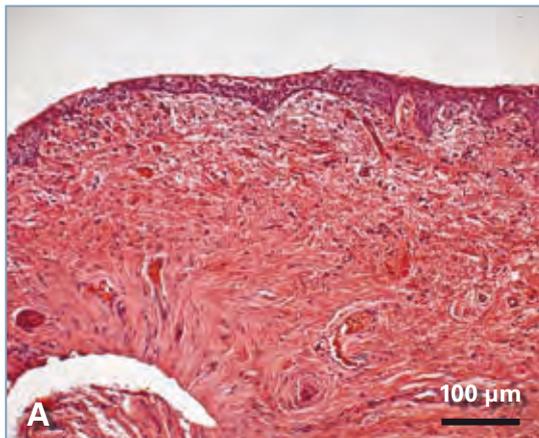
Immagini ingrandite 100x

Paziente 4:

Età: 63

Età dell'ingresso in menopausa: 49 anni

Nota: La paziente ha fatto uso di TSO per 6 anni, fino all'età di 55 anni.



(A) Mucosa vaginale in condizione basale con un epitelio più sottile, tipico della vaginite atrofica.

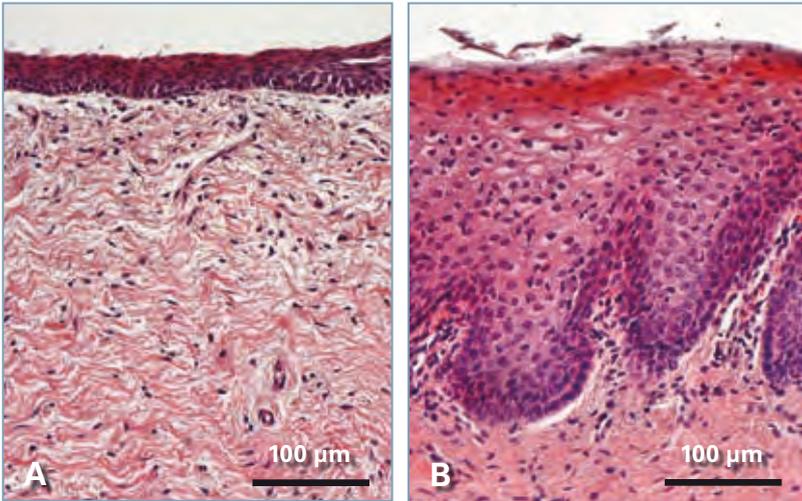
(B) La stessa paziente un mese dopo la seconda seduta di trattamento *MonnaLisaTouch™*. È evidente l'ispessimento dell'epitelio della mucosa.

Patient no.5:

Età: 54

Età dell'ingresso in menopausa: 53 anni

Nota: la paziente non ha mai fatto uso di TSO



(A) Mucosa vaginale in condizione basale con un epitelio più sottile, tipico della vaginite atrofica.

(B) Mucosa vaginale della stessa paziente un mese dopo la seconda seduta di trattamento *MonnaLisaTouch*TM. Il maggiore ispessimento dell'epitelio e la diffusione di numerose grandi cellule dalla superficie libera, unite al diametro maggiore delle cellule epiteliali ricche di glicogeno, mettono in evidenza il trofismo metabolico ripristinato e le dinamiche di tutto l'epitelio. Si osservino le papille del tessuto connettivo che si proiettano in profondità verso il lato inferiore dell'epitelio.

APPENDICE B

***MonnaLisa Touch™* pubblicazioni scientifiche**

A 12-week treatment with fractional CO₂ laser for vulvovaginal atrophy: a pilot study

S. Salvatore¹, R. E. Napp², N. Zerbinati³, A. Calligaro⁴, S. Ferrero⁵, M. Origion¹, M. Candiani¹, and U. Leone Roberti Maggiore¹

¹: Department of Obstetrics and Gynecology, Vita-Salute San Raffaele University and IRCCS San Raffaele Hospital, Milan, Italy. ²: IRCCS Policlinico S. Matteo Foundation and Department of Clinical, Surgical, Diagnostic and Pediatric Sciences, University of Pavia, Pavia, Italy. ³: University of Insubria, Varese, Italy. ⁴: University of Pavia, Pavia, Italy. ⁵: Department of Obstetrics and Gynecology, San Martino Hospital and National Institute for Cancer Research, University of Genoa, Genoa, Italy.

Corresponding author: U. Leone Roberti Maggiore, Department of Obstetrics and Gynaecology, IRCCS San Raffaele Hospital and Vita-Salute San Raffaele University, Via Olgettina 58-60, 20132 Milan, Italy; e-mail: ulrm@me.com.

Keywords: Fractional CO₂ laser, menopause, vaginal dryness, dyspareunia, vulvo-vaginal atrophy.

Abstract

Objective: This pilot study aimed to assess the efficacy and feasibility of fractional CO₂ laser in the treatment of vulvovaginal atrophy (VVA) in postmenopausal women.

Methods: VVA symptoms were assessed before and after three applications of laser over 12 weeks in 50 women (age 59.6 ± 5.8 years) dissatisfied with previous local estrogen therapies. Subjective (visual analog scale) and objective (Vaginal Health Index Score, VHIS) measures were used during the study period to assess VVA. Quality of life was measured by using the SF-12. A subjective scale to evaluate the degree of pain related to the laser application and the degree of difficulty to perform the laser procedure was used.

Results: Fractional CO₂ laser treatment was effective to improve VVA symptoms (vaginal dryness, vaginal burning, vaginal itching, dyspareunia, dysuria; $p < 0.001$) at 12-week follow-up, as well as the VHIS (13.1 ± 2.5 at baseline vs. 23.1 ± 1.9; $p < 0.001$). Both physical and mental scores of quality of life were significantly improved in comparison with baseline ($p < 0.001$). Satisfaction with the laser procedure was reported by 42 women (84%) and a minimal discomfort was experienced at the first laser application, mainly because of the insertion and the movements of the probe. Finally, the technique was very easy to perform in all women starting from the second application at week 4 and no adverse events were recorded during the study period.

Conclusions: A 12-week treatment with the fractional CO₂ laser was feasible and induced a significant improvement of VVA symptoms by ameliorating vaginal health in postmenopausal women. Further controlled studies should be performed to confirm the present data and to assess the long-term effects of the laser procedure on vaginal tissues.

Microablative fractional CO₂ laser improves dyspareunia related to vulvovaginal atrophy: a pilot study

S. Salvatore¹, U. Leone Roberti Maggiore¹, M. Origoni¹, M. Parma¹, L. Quaranta¹, F. Sileo¹, A. Cola¹, I. Baini¹, S. Ferrero², M. Candiani³, N. Zerbinati¹

¹: Obstetrics and Gynaecology Unit, Vita-Salute San Raffaele University and IRCCS San Raffaele Hospital, Milan – Italy. ²: Department of Obstetrics and Gynaecology, IRCCS San Martino Hospital and National Institute for Cancer Research, University of Genoa, Genoa – Italy. ³: Department of Surgical and Morphological Sciences, University of Insubria, Varese – Italy.

Corresponding author: U. Leone Roberti Maggiore, Department of Obstetrics and Gynaecology, IRCCS San Raffaele Hospital and Vita-Salute San Raffaele University, Via Olgettina 58-60, 20132 Milan, Italy; e-mail: ulrm@me.com.

Abstract

Objective: This pilot study aimed to assess the efficacy in treating sexually active menopausal patients who had dyspareunia related to vulvovaginal atrophy (VVA).

Materials and Methods: The intensity of VVA symptoms was recorded for each patient. Patients were administered the Short Form 12 (SF-12) and the female sexual function index (FSFI) to assess quality of life and sexual function, respectively. An objective evaluation of female urogenital health was performed using the Gloria Bachman Vaginal Health Index (VHI).

Results: At 12-week follow-up, the laser treatment was efficacious in improving dyspareunia in 100% of patients included in the study ($n = 15$). The intensity of dyspareunia significantly decreased from baseline (8.7 ± 1.0) to 12-week follow-up (2.2 ± 1.0 ; $p < 0.001$). In addition, all other VVA symptoms significantly ameliorated at the same follow-up. Furthermore, after the treatment, a significant improvement in quality of life (QoL) and sexual function were shown.

Conclusions: This pilot study demonstrated that treatment with the microablative fractional CO₂ laser of patients with dyspareunia related to VVA was efficacious at 12-week follow-up.

Microscopic and ultrastructural modifications of postmenopausal atrophic vaginal mucosa after fractional carbon dioxide laser treatment

N. Zerbinati¹, M. Serati², M. Origo³, M. Candiani³, T. Iannitti⁴, S. Salvatore³, F. Marotta⁵, A. Calligaro⁶

¹: Department of Surgical and Morphological Sciences, University of Insubria, Varese, Italy. ²: Department of Obstetrics and Gynecology, University of Insubria, Varese, Italy. ³: Department of Gynecology, IRCCS San Raffaele Hospital, Milano, Italy. ⁴: School of Biomedical Sciences, University of Leeds, Leeds, UK. ⁵: ReGenera Research Group for Aging Intervention, Milan, Italy. ⁶: Department of Public Health, Experimental and Forensic Medicine, Histology and Embryology Unit, University of Pavia, Pavia, Italy

Corresponding author: T. Iannitti, School of Biomedical Sciences, University of Leeds, Mount Preston Street, Garstang building, Leeds LS2 9JT, UK; e-mail: tommaso.iannitti@gmail.com.

Keywords: Vaginal atrophy, regenerative medicine, fractional carbon dioxide laser.

Abstract

Vaginal atrophy occurring during menopause is closely related to the dramatic decrease in ovarian estrogens due to the loss of follicular activity. Particularly, significant changes occur in the structure of the vaginal mucosa, with consequent impairment of many physiological functions. In this study, carried out on bioptic vaginal mucosa samples from postmenopausal, nonestrogenized women, we present microscopic and ultrastructural modifications of vaginal mucosa following fractional carbon dioxide (CO₂) laser treatment. We observed the restoration of the vaginal thick squamous stratified epithelium with a significant storage of glycogen in the epithelial cells and a high degree of glycogen-rich shedding cells at the epithelial surface. Moreover, in the connective tissue constituting the lamina propria, active fibroblasts synthesized new components of the extracellular matrix including collagen and ground substance (extrafibrillar matrix) molecules. Differently from atrophic mucosa, newly-formed papillae of connective tissue indented in the epithelium and typical blood capillaries penetrating inside the papillae, were also observed. Our morphological findings support the effectiveness of fractional CO₂ laser application for the restoration of vaginal mucosa structure and related physiological trophism. These findings clearly coupled with striking clinical relief from symptoms suffered by the patients before treatment.

Sexual function after fractional microablative CO₂ laser in women with vulvovaginal atrophy.

S. Salvatore¹, R. E. Napp², M. Parma¹, R. Chionna¹, F. Lagona¹, N. Zerbinati², S. Ferrero⁴, M. Origoni¹, M. Candiani¹, U. Leone Roberti Maggiore¹

¹: Department of Obstetrics and Gynecology, Vita-Salute San Raffaele University and IRCCS San Raffaele Hospital, Milan, Italy. ²: IRCCS Policlinico S. Matteo Foundation and Department of Clinical, Surgical, Diagnostic and Pediatric Sciences, University of Pavia, Pavia, Italy. ³: University of Insubria, Varese, Italy. ⁴: Department of Obstetrics and Gynecology, San Martino Hospital and National Institute for Cancer Research, University of Genoa, Genoa, Italy.

Corresponding author: U. Leone Roberti Maggiore, Department of Obstetrics and Gynaecology, IRCCS San Raffaele Hospital and Vita-Salute San Raffaele University, Via Olgettina 58-60, 20132 Milan, Italy; e-mail: ulrm@me.com.

Keywords: Fractional CO₂ laser, menopause, vaginal dryness, dyspareunia, sexual function, sexual intercourse, vulvovaginal atrophy.

Abstract

Objective: To investigate the effects of fractional microablative CO₂ laser on sexual function and overall satisfaction with sexual life in postmenopausal women with vulvovaginal atrophy (VVA).

Method: This prospective study included 77 postmenopausal women (mean age 60.6 ± 6.2 years) treated for VVA symptoms with the fractional microablative CO₂ laser system (SmartXide² V²LR, Monalisa Touch, DEKA, Florence, Italy). Sexual function and quality of life were evaluated with the Female Sexual Function Index (FSFI) and the Short Form 12 (SF-12), respectively, both at baseline and at 12-week follow-up. A 10-mm visual analog scale was used to measure the overall satisfaction with sexual life and the intensity of VVA symptoms (vaginal burning, vaginal itching, vaginal dryness, dyspareunia and dysuria) before and after the study period.

Results: We observed a significant improvement in the total score and the scores in each specific domain of the FSFI at 12-week follow-up compared to baseline ($p < 0.001$). After concluding the laser treatment, the overall satisfaction with sexual life significantly improved ($p < 0.001$). Seventeen (85%) out of 20 (26%) women, not sexually active because of VVA severity at baseline, regained a normal sexual life at the 12-week follow-up. Finally, we also found a significant improvement in each VVA symptom ($p < 0.001$) and in quality-of-life evaluation, both for the scores in the physical ($p = 0.013$) and mental ($p = 0.002$) domains.

Conclusions: Fractional microablative CO₂ laser treatment is associated with a significant improvement of sexual function and satisfaction with sexual life in postmenopausal women with VVA symptoms.

Vulvo-vaginal atrophy: A new treatment modality using thermo-ablative fractional CO₂ laser

A. Perino¹, A. Calligaro², F. Forlani³, C. Tiberio¹, G. Cucinella¹, A. Svelato¹, S. Saitta⁴, G. Calagna¹

¹: Department of Obstetrics and Gynaecology, University Hospital "P. Giaccone", Palermo, Italy. ²: Department of Public Health, Experimental and Forensic Medicine, Unit of Histology and Embryology University of Pavia, Pavia, Italy. ³: Department of Obstetrics and Gynaecology, University Hospital "P. Giaccone", Palermo, Italy. ⁴: Department of Human Pathology, School and Division of Allergy and Clinical Immunology, University of Messina, Messina, Italy.

Corresponding author: F. Forlani, Department of Obstetrics and Gynaecology, University Hospital "P. Giaccone", Palermo, Italy; e-mail: forlani81@gmail.com.

Keywords: Laser treatment, menopause, vulvo-vaginal atrophy.

Abstract

Objective: To evaluate the efficacy and feasibility of thermo-ablative fractional CO₂ laser for the treatment of symptoms related to vulvo-vaginal atrophy (VVA) in post-menopausal women.

Method: From April 2013 to December 2013, post-menopausal patients who complained of one or more VVA-related symptoms and who underwent vaginal treatment with fractional CO₂ laser were enrolled in the study. At baseline (T0) and 30 days post-treatment (T1), vaginal status of the women was evaluated using the Vaginal Health Index (VHI), and subjective intensity of VVA symptoms was evaluated using a visual analog scale (VAS). At T1, treatment satisfaction was evaluated using a 5-point Likert scale.

Results: During the study period, a total of 48 patients were enrolled. Data indicated a significant improvement in VVA symptoms (vaginal dryness, burning, itching and dyspareunia) ($P < 0.0001$) in patients who had undergone 3 sessions of vaginal fractional CO₂ laser treatment. Moreover, VHI scores were significantly higher at T1 ($P < 0.0001$). Overall, 91.7% of patients were satisfied or very satisfied with the procedure and experienced considerable improvement in quality of life (QoL). No adverse events due to fractional CO₂ laser treatment occurred.

Conclusions: Thermo-ablative fractional CO₂ laser could be a safe, effective and feasible option for the treatment of VVA symptoms in post-menopausal women.

Histological study on the effects of microablative fractional CO₂ laser on atrophic vaginal tissue: an ex vivo study

S. Salvatore¹, U. Leone Roberti Maggiore¹, S. Athanasiou², M. Origoni¹, M. Candiani¹, A. Calligaro³, N. Zerbini⁴

¹: Obstetrics and Gynecology Unit, Vita-Salute San Raffaele University and IRCCS San Raffaele Hospital, Milan, Italy. ²: Urogynecology Unit, First Department of Obstetrics and Gynecology, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece. ³: Department of Experimental Medicine, Histology, and Embryology, University of Pavia, Pavia, Italy. ⁴: Department of Dermatology, University of Insubria, Varese, Italy.

Corresponding author: U. Leone Roberti Maggiore, Department of Obstetrics and Gynaecology, IRCCS San Raffaele Hospital and Vita-Salute San Raffaele University, Via Olgettina 58-60, 20132 Milan, Italy; e-mail: ulrm@me.com.

Keywords: Aging, microablative fractional CO₂ laser, menopause, pelvic organ prolapse, vulvovaginal atrophy.

Abstract

Objective: Microablative fractional CO₂ laser has been proven to determine tissue remodeling with neof ormation of collagen and elastic fibers on atrophic skin. The aim of our study is to evaluate the effects of microablative fractional CO₂ laser on postmenopausal women with vulvovaginal atrophy using an ex vivo model.

Method: This is a prospective ex vivo cohort trial. Consecutive postmenopausal women with vulvovaginal atrophy managed with pelvic organ prolapse surgical operation were enrolled. After fascial plication, the redundant vaginal edge on one side was treated with CO₂ laser (SmartXide²; DEKA Laser, Florence, Italy). Five different CO₂ laser setup protocols were tested. The contralateral part of the vaginal wall was always used as control. Excessive vagina was trimmed and sent for histological evaluation to compare treated and nontreated tissues. Microscopic and ultrastructural aspects of the collagenic and elastic components of the matrix were studied, and a specific image analysis with computerized morphometry was performed. We also considered the fine cytological aspects of connective tissue proper cells, particularly fibroblasts.

Results: During the study period, five women were enrolled, and 10 vaginal specimens were finally retrieved. Four different settings of CO₂ laser were compared. Protocols were tested twice each to confirm histological findings. Treatment protocols were compared according to histological findings, particularly in maximal depth and connective changes achieved. All procedures were uneventful for participants.

Conclusions: This study shows that microablative fractional CO₂ laser can produce a remodeling of vaginal connective tissue without causing damage to surrounding tissue.

The use of pulsed CO₂ lasers for the treatment of vulvovaginal atrophy.

S. Salvatore¹, S. Athanasiou², M. Candiani¹

¹:Obstetrics and Gynecology Unit, Vita-Salute San Raffaele University, IRCCS San Raffaele Hospital, Milan, Italy. ²: Urogynecology Unit, First Department of Obstetrics and Gynecology, National & Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece.

Corresponding author: Salvatore Stefano, Department of Obstetrics and Gynecology, San Raffaele Hospital, Via Olgettina 60, 20132, Milan, Italy. Tel: +39 02 26432653;p39 347 2757131; fax: +39 02 26432759; e-mail: salvatore.stefano@hsr.it.

Keywords: dyspareunia, pulsed CO₂ laser, quality of life, sexual function, vaginal dryness, vulvovaginal atrophy.

Abstract

Purpose of Review: This article reviews the literature regarding the safety and efficacy of the use of a pulsed CO₂ laser for the treatment of vulvovaginal atrophy (VVA).

Recent Findings: Prospective observational studies have demonstrated histological changes after the use of pulsed CO₂ laser vaginally in atrophic conditions. Increased collagen and extracellular matrix production has been reported together with an increase in the thickness of the vaginal epithelium with the formation of new papilla. Three different observational studies reported a significant improvement of VVA assessed subjectively (with a 10-point visual analogue scale) and objectively (using the Vaginal Health Index) after a cycle of three treatments of pulsed CO₂ laser. Also sexual function (assessed with the Female Sexual Function Index) and quality of life (evaluated with the SF12 questionnaire) significantly improved. No complications or side-effects were reported during or after the laser procedure that was performed in an outpatient setting.

Summary: Increasing evidence with histological and clinical data supports the use of pulsed CO₂ lasers in the treatment of VVA; however, no randomized control trial (sham versus treatment) has yet been produced and no data on the duration of therapy are currently available.

Fractional CO₂ laser for vulvovaginal atrophy (VVA) dyspareunia relief in breast cancer survivors

A. Pieralli^{1,2}, M.G. Fallani¹, A. Becorpi¹, C. Bianchi¹, S. Corioni¹, M. Longinotti¹, Z. Tredici¹, S. Guaschino¹

¹: Section of Gynecology and Obstetrics, Department of Woman and Child Health, Careggi University Hospital, Largo Brambilla 3, 50144, Florence, Italy. ²: Largo Brambilla 3, 50134, Florence, Italy.

Corresponding author: Annalisa Pieralli clbianchi85@gmail.com.

Keywords: Vulvovaginal atrophy, laser, oncological menopause, breast cancer survivors.

Abstract

Purpose: The aim of this study was to evaluate the efficacy of fractional CO₂ laser therapy in breast cancer survivors as a therapeutic method for vulvovaginal atrophy (VVA) dyspareunia.

Methods: 50 patients (mean age 53.3 years) underwent fractional microablative CO₂ laser treatment for dyspareunia in oncological menopause (mean time of menopause 6.6 years). The Gloria Bachmann's Vaginal Health Index (VHI) score was chosen as system to evaluate the presence of VVA and its improvement after the treatment. Intensity of dyspareunia was evaluated using a visual analog scale (VAS).

Results: Data indicated a significant improvement in VVA dyspareunia ($p < 1.86e-22$) in breast cancer survivors who had undergone 3 sessions of vaginal fractional CO₂ laser treatment. Moreover, VHI scores were significantly higher 30 days post-treatment (T4) ($p < 0.0001$). 76 % of patients were satisfied or very satisfied with the treatment results. The majority (52 %) of patients were satisfied after a long-term follow-up (mean time 11 months). No adverse events due to fractional CO₂ laser treatment occurred.

Conclusions: The treatment with fractionated CO₂ laser appeared to be a feasible and effective treatment for VVA dyspareunia in breast cancer survivors with contraindications to hormonal treatments.

Is vaginal fractional CO₂ laser treatment effective in improving overactive bladder symptoms in post-menopausal patients? Preliminary results

A. Perino¹, G. Cucinella², G. Gugliotta³, S. Saitta⁴, S. Polito⁵, B. Adile², R. Marc⁵, G. Calagna¹.

¹:Department of Obstetrics and Gynaecology, University Hospital, Palermo, Italy; ²: Urogynecology Unit, 'Villa Sofia-Cervello' Hospital, Palermo, Italy; ³: Department of Human Pathology, School and Division of Allergy and Clinical Immunology, University of Messina, Messina, Italy; ⁴: Department of Obstetrics and Gynaecology, "Barone I. Romeo" Hospital, Patti (Messina), Italy; ⁵: Department of Morphology Surgery and Experimental Medicine, University of Ferrara, Ferrara, Italy.

Corresponding author: Gloria Calagna, MD; e-mail: gloria.calagna83@gmail.com.

Keywords: CO₂ laser, overactive bladder, menopause, vul-vo-vaginal atrophy.

Abstract

Objective: To evaluate the role of vaginal fractional CO₂ laser treatment in the relief of Overactive Bladder (OAB) symptoms in post-menopausal women.

Patients and Methods: Post-menopausal women who complained of one or more symptoms related to vulvo-vaginal atrophy (VVA), who experienced symptoms of OAB and who underwent vaginal treatment with fractional CO₂ laser were enrolled in the study. At baseline (T0) and 30 days post-treatment (T1), vaginal status (using Vaginal Health Index - VHI), subjective intensity of VVA symptoms (using a visual analog scale - VAS) and micturition diary were evaluated. OAB symptoms were also assessed using a validated questionnaire.

Results: Thirty patients were enrolled. A statistically significant improvement in VVA symptoms was observed and in VHI at T1 ($p < 0.0001$). A significant improvement was also identified in the micturition diary, in number of urge episodes and OAB-q ($p < 0.0001$). Nine of the 30 patients suffered from incontinence episodes and had improved at T1.

Conclusions: We showed that fractionated CO₂ laser vaginal treatment has proved to be effective in improving OAB symptoms in post-menopausal women. Moreover, it is a safe and efficacious measure for the relief of VVA related conditions. Further long-term studies are needed to confirm these preliminary results.

The effect of microablative fractional CO₂ laser on vaginal flora of postmenopausal women

S. Athanasiou¹, E. Pitsouni^{1,2}, S. Antonopoulou³, D. Zacharakis¹, S. Salvatore⁴, M.E. Falagas^{2,5,6}, T. Grigoriadis¹.

¹: Urogynecology Unit, 1st Department of Obstetrics and Gynecology, "Alexandra" Hospital, Medical School, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece; ²: Alpha Institute of Biomedical Sciences (AIBS), Athens, Greece; ³: Microbiology Department, "G. Gennimatas" General Hospital, Athens, Greece; ⁴: Obstetrics and Gynecology Unit, Vita-Salute San Raffaele University, IRCCS San Raffaele Hospital, Milan, Italy Urogynecology Unit; ⁵: Department of Medicine-Infectious Diseases, IASO General Hospital, Athens, Greece; ⁶: Department of Medicine, Tufts University School of Medicine, Boston, MA, USA.

Corresponding author: Assistant Professor S. Athanasiou stavros.athanasiou@gmail.com Urogynecology Unit, 1st Department of Obstetrics and Gynecology, "Alexandra" Hospital, Medical School, National and Kapodistrian University of Athens, Vasilisis Sofias Ave. 80, 11528, Athens, Greece.

Keywords: Vaginal atrophy; menopause; intravaginal therapy; urinary tract infections; UTIs; vaginitis; urogenital infections; dyspareunia.

Abstract

Objective: To assess the effect of microablative fractional CO₂ laser (MFCO₂-Laser) therapy on the vaginal microenvironment of postmenopausal women.

Methods: Three laser therapies at monthly intervals were applied in postmenopausal women with moderate to severe symptoms of genitourinary syndrome of menopause, pH of vaginal fluid >4.5 and superficial epithelial cells on vaginal smear <5%. Vaginal fluid pH values, fresh wet mount microscopy, Gram stain and aerobic and anaerobic cultures were evaluated at baseline and 1 month after each subsequent therapy. Nugent score and Hay-Ison criteria were used to evaluate vaginal flora.

Results: Fifty-three women (mean age 57.2 ± 5.4 years) participated and completed this study. MFCO₂-Laser therapy increased Lactobacillus (p < 0.001) and normal flora (p < 0.001) after the completion of the therapeutic protocol, which decreased vaginal pH from a mean of 5.5 ± 0.8 (initial value) to 4.7 ± 0.5 (p < 0.001). The prevalence of Lactobacillus changed from 30% initially to 79% after the last treatment. Clinical signs and symptoms of bacterial vaginosis, aerobic vaginitis or candidiasis did not appear in any participant.

Conclusions: MFCO₂-Laser therapy is a promising treatment for improving the vaginal health of postmenopausal women by helping repopulate the vagina with normally existing Lactobacillus species and reconstituting the normal flora to premenopausal status.

An assessment of the safety and efficacy of a fractional CO₂ laser system for the treatment of vulvovaginal atrophy

E.R. Sokol¹, M.M. Karram².

¹:Division of Urogynecology and Pelvic Reconstructive Surgery, Stanford University, Stanford, CA;

²: Advanced Urogynecology and Pelvic Surgery, The Christ Hospital, Cincinnati, OH.

Corresponding author: Eric R. Sokol, MD, Stanford University School of Medicine, 300 Pasteur Drive, Room G332, Stanford, CA 94305. E-mail: esokol@stanford.edu.

Keywords: Dyspareunia; fractional CO₂ laser; genitourinary syndrome of menopause; menopause; vaginal dryness; vulvovaginal atrophy.

Abstract

Objective: The aim of the study was to assess the safety and efficacy of a novel fractional CO₂ laser for the treatment of genitourinary syndrome of menopause (GSM).

Methods: Women presenting with GSM and meeting study criteria were enrolled. Examinations at baseline and follow-up (3 mo after final treatment) evaluated dilator tolerance and vaginal pH. Visual analog scales were used to assess pain, vaginal burning, vaginal itching, vaginal dryness, dyspareunia, and dysuria; Vaginal Health Index scores were completed before each treatment and at follow-up; Female Sexual Function Index and Short Form 12 questionnaires were also completed. Participant satisfaction was measured on a 5-point Likert scale (1=very dissatisfied, 5=very satisfied). Women received three laser treatments, 6 weeks apart.

Results: Thirty women participated (mean age 58.6±8.8 y). None withdrew or were discontinued due to an adverse event; three were lost to follow-up. Average improvement in visual analog scale scoring was 1.7±3.2 for pain, 1.4±2.9 for burning, 1.4±1.9 for itching, 6.1±2.7 for dryness, 5.1±3.0 for dyspareunia, and 1.0±2.4 for dysuria; improvement in average Vaginal Health Index and Female Sexual Function Index scores were statistically significant (P<0.001). Twenty-five of 30 participants (83%) showed increase in comfortable dilator size at 3-month follow up. Before the second and third treatments, 86.6% (26 of 30) of women reported they were better or much better than at the previous treatment; 26 of 27 women (96%) were reportedly satisfied or extremely satisfied at follow-up.

Conclusions: In this sample, the data suggest that the fractional CO₂ laser is effective and safe for treatment of the symptoms associated with GSM.

Fractional microablative CO₂ laser for vulvovaginal atrophy in women treated with chemotherapy and/or hormonal therapy for breast cancer: a retrospective study

T. Pagano¹, P. De Rosa¹, R. Vallone¹, F. Schettini², G. Arpino², S. De Placido, G. Nazzaro¹, M. Locci¹, G. De Placido¹.

¹: Reproductive Medicine Unit, Department of Neuroscience, Reproductive Medicine, Odontostomatology.

²: Medical Oncology, Department of Clinical and Surgical Medicine, University of Naples "Federico II", Naples, Italy.

Corresponding author: Francesco Schettini, MD, Medical Oncology, Department of Clinical and Surgical Medicine, University of Naples "Federico II", Via Sergio Pansini 5, Naples 80131, Italy. E-mail: francescoschettini1987@gmail.com.

Keywords: Breast cancer; CO₂ laser therapy; wstrogen preparations; hormone receptors; vulvovaginal atrophy.

Abstract

Objective: Breast cancer is one of the most common malignancies in women. Hormonal treatment and chemotherapy induce a transient or permanent menopause status. Vulvovaginal atrophy (VVA) is a frequent debilitating symptom of menopause that is best treated with local or systemic estrogen formulations. Because estrogens drive the growth of the majority of breast cancers, most effective VVA therapies are precluded. The aim of this study was to evaluate the effects of fractional microablative CO₂ laser on sexual function and in relieving symptoms in women with breast cancer and VVA induced or exacerbated by iatrogenic menopause.

Methods: This retrospective study included 26 women affected by hormone-receptor positive breast tumors and treated for VVA symptoms with the fractional microablative CO₂ laser system. Every 30 to 40 days, women underwent a cycle of treatment for a total of three cycles. During each cycle, women underwent a gynecological examination and completed visual analog scale questionnaires designed to assess (1) the degree of symptoms and (2) procedure-related discomfort.

Results: Treatment resulted in a significant regression of VVA symptoms and procedure-related discomfort versus baseline ($P < 0.001$ in almost all cases). No adverse reactions were observed nor reported by women.

Conclusions: Fractional microablative CO₂ laser treatment is associated with a significant improvement of VVA symptoms in women affected by hormone-driven breast cancer. This procedure has the advantage of relieving iatrogenic/physiological VVA symptoms without resorting to contraindicated estrogen preparations, which have been the most effective therapy thus far.

The curative effect and feasibility analysis of fractional CO₂ laser in the treatment of vulvovaginal in postmenopausal women

Y. Miao, J. Li, J. Wang

Department of Obstetrics and Gynecology, Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China.

Corresponding author: Jianliu Wang - Department of Obstetrics and Gynecology, Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China. E-mail: wangjianliu@pkuph.edu.cn.

Keywords: Fractional CO₂ laser; postmenopause; vulvovaginal atrophy; curative effect; feasibility.

Abstract

Objectives: This prospective study aimed to assess the curative efficacy and feasibility of fractional CO₂ laser in the treatment of vulvo-vaginal atrophy (VVA) in postmenopausal women.

Methods: 30 patients with VVA recruited in this study, fractional CO₂ laser treatment was applied, visual analogue scale (VAS) and vaginal health index score (VHIS) measures were used to assess VVA, and degree of pain before and after the treatment, additionally, satisfaction survey was done post treatment.

Results: Fractional CO₂ laser treatment was significant improved VVA symptoms (vaginal itching, 6.00±2.60 vs. 1.38±0.97, P<0.001; vaginal dryness 7.04±2.26 vs. 1.88±1.03, P<0.001; vaginal burning, 6.25±2.13 vs. 1.50±0.88, P<0.001; dyspareunia, 7.54±2.54 vs. 2.04±1.15, P<0.001), as well as the VHIS (9.79±2.76 vs. 16.33±2.06, P<0.001). Satisfaction with the laser procedure was reported by 28 women (93.33%) and a minimal discomfort was experienced at the laser application. No adverse events were recorded.

Conclusions: The fractional CO₂ laser treatment can improve the VVA symptoms in postmenopausal patients with vulvo-vaginal atrophy and was proved to be a simple, outpatient therapy for VVA patients.

The application of fractional CO₂ laser in the treatment of vulvar lichen sclerosis

J. Li, Y. Miao, J. Wang

Department of Obstetrics and Gynecology, Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China.

Corresponding author: Jianliu Wang - Department of Obstetrics and Gynecology, Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China. E-mail: wangjianliu@pkuph.edu.cn.

Keywords: Fractional carbon dioxide laser; vulvar lichen sclerosis; pruritus; effect.

Abstract

Objectives: To investigate the efficacy and side effects for fractional CO₂ laser in the treatment of vulvar lichen sclerosis (VLS).

Methods: 31 patients with VLS symptoms were enrolled prospectively from July 2015 to April 2016 in Peking University People's Hospital. The fractional CO₂ laser was used for VLS lesions, a total of 3-5 times, each time per-month. Visual analogue scale (VAS) was assessed the degree of vulvar pruritus, skin chapping, dyspareunia before and after treatment. After the treatment, satisfaction survey was done.

Results: The rate improvement of VLS symptoms was 90.32% (28/31) with fractional CO₂ laser (P<0.001). Compare with before treatment, there were significant difference in pruritus score at the first and the third after treatment one month (8.07±1.97 vs. 3.43±0.94 and 1.93±0.62, P<0.001), vulvar skin chapping score (3.5±1.79 vs. 1.36±1.22 and 0.64±0.84, P<0.005), respectively. The dyspareunia score (4.29±2.70 vs. 1.14±0.95, P<0.05) were improved significantly at the third after treatment one month. After treatment 48h, there were 2 cases with mild pain, 6 cases with local mils hyperemia, 4 cases with mild swelling. No adverse events due to fractional CO₂ laser treatment occurred. During 3-7 months follow-up, 4 cases (12.9%) with the skin color from white to gray, 2 cases recovered sex from 6 cases. The overall satisfaction rate was 96.77% (30/31).

Conclusions: The fractional CO₂ laser is effective, minimal injury and acceptable side effects for vulvar lichen sclerosis, and may be a new treatment for it.

Microablative fractional CO₂-laser therapy and the genitourinary syndrome of menopause: An observational study

E. Pitsouni¹, T. Grigoriadis¹, A. Tsiveleka², D. Zacharakis¹, S. Salvatore³, S. Athanasiou¹

¹: Urogynecology Unit, 1st Department of Obstetrics and Gynecology, "Alexandra" Hospital, Medical School, National and Kapodistrian University of Athens, Athens – Greece. ²: Cytology Department, "Alexandra Hospital", Athens - Greece. ³: Obstetrics and Gynecology Unit, Vita-Salute San Raffaele University, IRCCS San Raffaele Hospital, Urogynecology Unit, Milan - Italy.

Corresponding author: Stavros Athanasiou. E-mail addresses: athanasio@otenet.gr, stavros.athanasiou@gmail.com.

Keywords: Menopause; urinary incontinence; urgency; sexual function; dyspareunia; vulvovaginal atrophy.

Abstract

Objectives: This study aimed to assess the effect of the Microablative Fractional CO₂ Laser (CO₂-laser) therapy on vaginal pathophysiology and the symptoms of the Genitourinary Syndrome of Menopause (GSM).

Methods: Postmenopausal women with moderate to severe symptoms of GSM underwent three sessions of CO₂-laser therapy at monthly intervals. Participants were evaluated at baseline and 4 weeks after the last treatment.

Main Outcome Measures: The primary outcomes were Vaginal Maturation Value (VMV) and Vaginal Health Index Score (VHIS). Secondary outcomes included symptoms of GSM, Female Sexual Function Index (FSFI), International Consultation on Incontinence Questionnaire of Female Urinary Tract Symptoms (ICIQ-FLUTS) and Urinary Incontinence Short Form (ICIQ-UI SF), Urogenital Distress Inventory (UDI-6) and King's Health Questionnaire (KHQ).

Results: Fifty-three postmenopausal women completed this study. VMV, VHIS and FSFI increased significantly. Dyspareunia, dryness, burning, itching, dysuria, frequency, urgency, urgency incontinence, stress incontinence and scores on the ICIQ-FLUTS, ICIQ-UI SF, UDI-6 and KHQ decreased significantly. Factors predicting for which women the CO₂-laser therapy was more effective were not identified.

Conclusions: This study suggests that intravaginal CO₂-laser therapy for postmenopausal women with clinical signs and symptoms of GSM may be effective in improving both vaginal pathophysiology and reported symptoms.

Fractional CO₂ laser treatment of the vestibule for patients with vestibulodynia and genitourinary syndrome of menopause: a pilot study

F. Murina¹, M. Karram², S. Salvatore³, R. Felice¹.

¹: Lower Genital Tract Disease Unit, V. Buzzi Hospital, University of Milan, Milan, Italy. ²:Division of Female Pelvic Medicine and Reconstructive Surgery, The Christ Hospital Department of Obstetrics and Gynecology, Cincinnati, OH, USA. ³:Department of Obstetrics and Gynecology, Vita-Salute San Raffaele University and IRRCSS San Raffaele Hospital, Milan, Italy.

Corresponding author: Mickey Karram. Electronic address: Mickey.Karram@thechristhospital.com. Division of Female Pelvic Medicine and Reconstructive Surgery, The Christ Hospital Department of Obstetrics and Gynecology, Cincinnati, OH, USA.

Keywords: Fractional CO₂ laser; genitourinary syndrome of menopause; vestibulodynia.

Abstract

Introduction: Chronic vulvar pain and burning remains one of the most perplexing problems faced by practicing gynecologists.

Aim: To evaluate the effectiveness and safety of the application of micro-ablative fractional CO₂ laser to the vulvar vestibule in the management of patients with vulvar pain from vestibulodynia or genitourinary syndrome of menopause.

Methods: Patients (N = 70) underwent fractional micro-ablative CO₂ laser treatment for vestibular pain plus vestibulodynia (n = 37) or genitourinary syndrome of menopause (n = 33). Inclusion criteria were the existence of vestibular atrophic changes and the absence of moderate or severe pelvic floor hypertonic dysfunction.

Main Outcome Measures: A visual analog scale of pain and the Marinoff score of dyspareunia were chosen to evaluate improvement. Grading of vestibular health also was quantified using a four-point scoring system (0 = no atrophy, 3 = severe atrophy). Data were collected at baseline, at weeks 4, 8, and 12, and 4 months after the final treatment.

Results: For visual analog scale and dyspareunia scoring and for the overall vestibular health index scoring, statistically significant improvement was noted after three sessions of vestibular fractional CO₂ laser treatment. Improvement gradually increased throughout the study period and was maintained through the 4-month follow-up visit. There was no statistically significant difference in outcomes between the two study groups. No adverse events from fractional CO₂ laser treatment were noted. Overall, 67.6% of patients stated significant improvement from the laser procedure.

Conclusion: This preliminary case series showed encouraging results using fractional CO₂ laser treatment of the vestibule in women with vestibulodynia and genitourinary syndrome of menopause.

Fractional CO₂ laser treatment for vaginal atrophy and vulvar lichen sclerosus

M.S. Baggish¹.

¹: St. Helena Hospital, St. Helena, CA, and Department of Obstetrics and Gynecology, University of California - San Francisco, CA - USA.

Corresponding author: Michael S. Baggish, MD. 1576 Voorhees Circle St. Helena, CA 94574.
E-mail: mbaggish@gmail.com.

Keywords: Fractional CO₂ laser, vaginal atrophy, lichen sclerosus.

Abstract

Objectives: The aim of this research was to assess the efficacy of fractional CO₂ laser energy for treating vaginal atrophy and lichen sclerosus.

Materials and Methods: The first study population was 23 postmenopausal women diagnosed with vaginal atrophy via microscopic evaluation and who were symptomatic. The second study population was 27 postmenopausal women diagnosed with lichen sclerosus by biopsy and who were symptomatic. Patients with vaginal atrophy had 3 treatment sessions spaced at 4–6 weeks between each session. Laser settings for this group were: power: Watts, 30; time, 1000 microseconds; and spacing, 1000 micrometers. For the lichen sclerosus group, the power was set at 20 Watts and 3–4 treatments were given at 4–6-week intervals.

Results: In the vaginal atrophy cohort, 22/23 women who previously complained of dryness and discomfort had these symptoms alleviated and vaginal microscopic exam showed significant changes in color, elasticity, and wetness following 3 courses of CO₂ laser fractional treatment; additionally 20/23 women had elimination of urinary frequency and urgency, 18/21 women had alleviation of dyspareunia. In the lichen sclerosus cohort 24/27 patients who had laser treatment reported cessation of itching and pain/discomfort; and 26/27 women demonstrated visible improvement of skin color, elasticity, vascularity following 3-4 laser treatments. All examinations were performed with the operating microscope.

Conclusions: The fractional CO₂ laser beam is useful for treating vaginal atrophy and lichen sclerosus. This new technique represents a significant divergence from estrogenic-, steroid- and corticosteroid-bulwark dependence. All treatments were performed in an office setting and were associated with either no pain or, at the most, minimal and temporary discomfort. This new use of the CO₂ laser is an excellent alternative for managing these two troublesome problems, particularly in postmenopausal women.

Fractional CO₂ laser treatment: a novel approach for stress urinary incontinence management in post-menopausal women

P. González Isazaa^{1,2}, A. I. Ruiz Rosas^{3,4,5,6}, D. L. Vélez Rizo⁷

¹: Ginecología y Obstetricia, Universidad Militar de Colombia, Bogotá, Colombia. ²: Uroginecología y Piso pélvico, Cirugía Láser y Reconstructiva ginecológica, Presidente de la Asociación de Ginecólogos Estéticos Colombianos (AGEOC), Miembro Asociación Internacional Uroginecológica (IUGA), Pereira, Risaralda, Colombia. ³: Medicina Estética Magister, Universitat Les IllesBalears, España. ⁴: Docente de Dermatología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia. ⁵: Directora de Laser Medical Care, Bogotá, Colombia. ⁶: Miembro ASMLS Bogotá DC, Cundinamarca, Colombia. ⁷: Ginecología y Obstetricia, Universidad de la Sabana, Bogotá, Colombia.

Corresponding author: Pablo González Isazaa. E-mail address: pagonza@hotmail.com. Urogynecological private office, Megacentro Pinares, Pereira, Colombia.

Keywords: Vaginal atrophy, menopause, laser CO₂, quality of life, urinary incontinence, vulvovaginal.

Abstract

Objectives: To describe the results of the fractional CO₂ laser as an alternative treatment for stress urinary incontinence in post-menopausal women, and to demonstrate an improvement in quality of life after the treatment.

Materials and Methods: A prospective, single centre descriptive study was conducted on 10 post-menopausal patients with diagnosis of stress urinary incontinence. Recruited patients were evaluated with Stress Cough test and urethral Mobility Q-Tip Test, which confirmed the diagnosis. They then began a 3 session treatment protocol; 1 every 3 weeks using the SmartXide² V²LR fractional microablative CO₂ laser system for the MonaLisa Touch™ procedure in the urethrovaginal junction. The Urogenital Distress Inventory UDI-6 was performed to evaluate severity and quality of life impact related to stress urinary incontinence in the patients included in the study, before and after treatment. Patients were monitored from July to December 2013.

Results: Analysis of the UDI-6 Scores before and at the end of treatment showed an improvement in the score in comparison to the baseline condition, indicating a subjective improvement in all the symptoms related to SUI included in the score.

Conclusions: The MonaLisa Touch™ procedure performed with SmartXide² V²LR laser system is a complementary alternative to traditional surgical techniques, providing a safe and effective treatment for urinary incontinence in post-menopausal women.

APPENDICE C

MonnaLisa Touch™ White Papers

Menopausal Vaginal Atrophy Treatment with Microablative Fractional CO₂ Laser. A New Approach.

Pablo González Isaza¹, Aura Ibeth Ruiz Rosas², Luisa Galindo³.

¹: Specialist in Gynecology and Obstetrics. Expert in Laser Surgery and Reconstructive Surgery of the pelvic floor. Head of Urogynecology Unit, University Hospital Pereira Colombia. Member of the International Urogynecological Association (IUGA). ²: Teacher in Aesthetics Medicine, University of Les Illes Balears, Spain. Professor in Dermatology at the National University of Colombia, Bogota. Scientific Director of Medical Care Clinic, Bogota, Colombia. ³: Third year resident in Dermatology, Faculty of Medicine, National University of Colombia, Bogota.

English translation of:

Pablo González Isaza, Aura Ibeth Ruiz Rosas, Luisa Galindo. Tratamiento de la atrofia vaginal en la menopausia con microablacion con laser de CO₂ fraccionado. Un nuevo enfoque. Revista de Enfermedades del Tracto Genital Inferior. COMEGIC. 2014, 8(1); pp. 36-40.

Abstract

Vulvo-vaginal atrophy is a public health problem¹ involving 50% of women in menopause who may have a variety of related symptoms. These are due to the natural physiological ageing process² that also involves the vaginal mucosa. The loss of reticular configuration by the extracellular matrix of the connective tissue causes incorrect hydration of mucosa and problems with the vaginal trophism. Until now available treatments have shown partial effectiveness. By applying the principles of regenerative and anti-aging medicine the use of a CO₂ laser system, with pulsed emission specifically created for vaginal mucosa treatment, induces important molecular events in the connective tissue matrix restoring the correct vaginal trophism. Treated patients referred significant clinical benefits also associated with an improvement in the sexual function and the quality of life. The Vaginal Health Index of Gloria Bachman (table 1) was applied to 55 voluntary patients ranging from 37 to 63 years old (average age: 52). Patients began a treatment protocol using the SmartXide² V²LR - *MonaLisa Touch*[®] fractional microablative CO₂ laser system showed a significant score change in comparison to the baseline conditions. Moreover, all patients indicated subjective improvement in all the symptoms of vaginal atrophy.

Keywords: vaginal atrophy, menopause, laser, quality of life, sexual function.



Use of the *MonaLisa Touch*[®] Treatment on Cancer Patients

Maurizio Filippini, M.D. - Miriam Farinelli, M.D.

Gynaecological Endoscopy Functional Unit of the Republic of San Marino State Hospital.

Abstract

Objective: This pilot study aimed to assess the efficacy in treating atrophic vaginitis symptoms in those women who cannot receive local or systemic hormone-based therapies, since they have had a hormone-sensitive tumour.

Methods: 46 treatments with the *MonaLisa Touch*[®] were performed from 01/23/2013 to 10/31/2014 at the Republic of San Marino State Hospital involved patients with neoplasias. The intensity of atrophic vaginitis symptoms was recorded for each patient.

Results: About two months after the first treatment the percent reduction of the individual symptoms was very significant, not unlike that obtained from patients who received the treatment but without neoplastic pathologies. Furthermore, after the treatment, a significant improvement in quality of life was shown.

Conclusions: Considering the absence of complications and especially the absence of contraindications, the *MonaLisa Touch*[®] laser treatment is a valuable and irreplaceable aid for all patients who cannot and prefer not to receive hormone replacement therapy.

Keywords: Vaginal atrophy, oestrogen-sensitive tumour, induced menopause, laser.



Use of the *MonaLisa Touch*[®] Treatment for Post-Partum Dyspareunia. A Pilot Study

Maurizio Filippini, M.D. - Miriam Farinelli, M.D.

Gynaecological Endoscopy Functional Unit of the Republic of San Marino State Hospital.

Abstract

Objective: This pilot study aimed to assess the efficacy in treating perineal pain symptoms in women who had late post-partum dyspareunia.

Methods: The study involved six patients who had late post-partum dyspareunia. Over a time period from January 1, 2013 through August 31, 2014, patients were subjected to *MonaLisa Touch*[®] CO₂ laser treatment.

Results: Study results showed that two months after the treatment, out of a total of six patients, four treated for pain following episiorrhaphy or vaginal tear reported improvement in symptoms. The other two patients who underwent cesarian section, one has noticed a significative improvement while the other patient had modest pain reduction after two treatments.

Conclusions: This pilot study has shown the effectiveness of the *MonaLisa Touch*[®] fractional CO₂ laser treatment in patients with post-partum perineal pain.

Keywords: Perineal trauma, CO₂ fractional laser, post-partum dyspareunia, episiotomy, perineal tear.

***MonaLisa Touch*[®] Dual Probe Therapy for the Treatment of Lichen Sclerosus and Vaginal Atrophy**

J. R. Dell, M.D., FACOG¹, FACS², FPMRS³

Director, Institute for Female Pelvic Medicine. Knoxville, Tennessee - USA.

¹: Fellow of the American College of Obstetricians and Gynecologists; ²: Fellow of the American College of Surgeons; ³: Female Pelvic Medicine & Reconstructive Surgery.

Abstract

Objective: Lichen Sclerosus (LS) is a chronic, inflammatory, mucocutaneous disorder which affects both females and males. We report our clinical experience on 15 patients with LS and postmenopausal vaginal atrophy treated with *MonaLisa Touch*[®] dual probe therapy simultaneously to address both conditions.

Methods: All patients were offered dual probe therapy to simultaneously address the vaginal atrophy as well as the LS. The treatment protocol was initially 3 treatments at 40-50 days interval. At each treatment session, patients underwent treatment of the vagina with the 360° probe followed immediately at the same session with the external (vulvar) probe for affected vulvar tissue.

Results: The results revealed that the 15 patients (100%) reported improvement in their vulvar symptoms with 1 patient reporting only minimal improvement (10%) in vulvar symptoms after 3 treatments. Therefore, upon completion of 3 dual probe therapy treatments, and based on clinical improvement reported by the patients, all of them were offered the opportunity to extend their external probe treatments for LS for 2 additional treatment sessions for a total of 5 vulvar treatments. The 15 patients (100%) desired to continue their treatment for 2 additional sessions. Additional improvement gained by extension of vulvar treatments. No complications were detected in patients during the treatment sessions other than mild discomfort or burning during or shortly after the treatment session.

Discussion: Little else is known about the role of laser therapy for LS. Our case series suggests that fractional CO₂ laser therapy delivered with a dual probe approach with *MonaLisa Touch*[®] may offer a valuable addition to the treatment armamentarium of LS.

Keywords: lichen sclerosus, CO₂ fractional laser, menopause, vaginal atrophy.

finito di stampare nel mese di Dicembre 2016

L'atrofia vaginale è una condizione molto diffusa nella popolazione femminile, specialmente in menopausa. Il tratto genitale è infatti particolarmente sensibile al declino estrogenico e circa la metà di tutte le donne in post-menopausa lamentano i sintomi tipici dell'atrofia genitale che interferiscono pesantemente con la funzione sessuale e la qualità di vita. Con questa pubblicazione DEKA presenta *MonnaLisa Touch™*, il nuovo e innovativo trattamento laser-assistito per l'atrofia vaginale. *MonnaLisa Touch™* permette, in modo naturale, di ringiovanire la mucosa della vagina, intendendo con "ringiovanimento" un'azione assolutamente terapeutica e non puramente estetica. Ripristinando infatti la struttura pre-menopausica dei tessuti è possibile recuperare quella funzionalità che aveva perso con l'invecchiamento.

Procedura **MonnaLisa Touch™**
approvata dai Ginecologi Italiani



ASSOCIAZIONE
OBSTETRICI GINECOLOGI
CERCHIAMO ITALIANI



The Code of Excellence

DEKA M.E.L.A. s.r.l.

Via Baldanzese,17 - 50041 Calenzano (FI) - Italy
Tel. +39 055 8874942 - Fax +39 0558832884

www.dekalaser.com

Riservato ai professionisti sanitari