UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI NAPOLI "FEDERICO II"

SCUOLA DI MEDICINA E CHIRURGIA

Dottorato di Ricerca in "Sanità Pubblica e Medicina Preventiva"

Coordinatore: Prof. Giancarlo Troncone

TESI DI DOTTORATO

"Nuove alternative terapeutiche per il trattamento della sindrome genitourinaria e dell'urge incontinence femminile lieve e moderata"

ANNO ACCADEMICO 2019-2020

Tutor

Prof. Attilio Di Spiezio Sardo

Candidato

Dott.ssa Annamaria Fabozzi

INDICE

1. **Introduzione**……...…… 1

2. **Capitolo 2. L'incontinenza urinaria femminile**
   - 2.1 Generalità…….... 8
   - 2.2 Eziopatogenesi ……... 9
   - 2.3 Meccanismo della continenza……..... 10
   - 2.4 Trattamento dell'incontinenza urinaria da urgenza……. 13

3. **La sindrome genitourinaria della menopausa**
   - 3.1 Definizione…… 15
   - 3.2 Epidemiologia…… 17
   - 3.3 Contesto clinico: la menopausa……. 18
   - 3.4 Eziopatogenesi…… 22
   - 3.5 Diagnosi……. 26
   - 3.6 Management…….. 30
   - 3.7 Trattamento non ormonale……. 32
   - 3.8 Trattamento laser…… 35
   - 3.9 Trattamento ormonale sistemico e locale…… 36

4. **Effetti della somministrazione intravaginale di DHEA (prasterone) sui sintomi della incontinenza urinaria in donne affette da atrofia vulvo-vaginale.**
   - 4.1 Disegno e scopo dello studio……. 43
   - 4.2 Reclutamento……. 44
   - 4.3 Procedure di valutazione di efficacia…….. 45
   - 4.4 Trattamenti…….…. 53
   - 4.5 Analisi statistica……..….. 53
   - 4.6 Riservatezza e protezione dei dati……. 54
   - 4.7 Risultati……..…… 54
   - 4.8 Discussione ……...……..…... 58
   - 4.9 Conclusioni ……..…….65

5. **Effetti di un integratore orale a base di cucurbita maxima e capsicum annum sui sintomi di vescica iperattiva in una popolazione femminile. Studio osservazionale …… 67**
5.1 Introduzione…….. 68
5.2 Materiale e metodi…… 71
5.2.1 Approvazione etica…… 73
5.3 Analisi statistica…… 73
5.4 Risultati…… 74
5.5 Discussione……. 74
5.6 Conclusione…… 77

6. **Bibliografia**…… 84

INTRODUZIONE

Le alterazioni della statica pelvica possono essere motivo di limitazione sociale, sessuale e relazionale per i soggetti che ne risultano affetti. Tra queste, l'incontinenza urinaria, definita dall'ICS (International Continence Society)[1] come una qualsiasi perdita involontaria di urina, rappresenta un problema di salute dal notevole impatto clinico, psicologico ed economico.

Già nel 1998, nel corso della prima Consultation on Incontinence, la World Health Organization (WHO) ha riconosciuto l'incontinenza urinaria (IU) come un problema di *sanità pubblica* qualificando la stessa come *malattia* e, successivamente, nel 2004, durante la seconda Consultation on Incontinence, ha stimato che circa 200 milioni di persone ne risultassero affette. L'interesse della WHO di classificare l'IU come malattia nasce dalle conseguenze cliniche, e non, che da esse derivano[2].

La frequenza con la quale oggi le donne richiedono assistenza medica per disordini del pavimento pelvico aumenta in maniera significativa con l'età. D'altra parte, l'aumento dell'aspettativa di vita metterà lo specialista di fronte alla necessità di identificare approcci terapeutici che non solo trattino la condizione patologica, ma anche (e forse soprattutto!) contribuiscano al miglioramento della qualità della vita.

Anche la prevalenza dell'IU aumenta con l'età. Essa colpisce il 15-30% degli individui di età inferiore a 65 anni e il 30-55% degli individui di 65 o più anni. È da 2 a 3 volte più frequente nella donna che nell'uomo. Ciò è dovuto al fatto che gli organi pelvici delle donne sono più esposti alle conseguenze derivanti da particolari lesioni (ad esempio, gravidanza e parto vaginale, variazioni ormonali post-menopausali)[3]. I dati presenti in letteratura stimano che circa il 5-69% della popolazione femminile risulta affetta da incontinenza urinaria[4]. Tale ampio range percentuale riflette la difficoltà della comunità scientifica di

effettuare una stima esatta della prevalenza dell'IU, sia per i dati eterogenei che derivano dagli studi epidemiologici, che considerano diverse variabili quali età, etnia, gravidanze, stato menopausale, comorbilità, tipologia di incontinenza, grado di severità, etc., sia per i differenti metodi di campionamento (questionari telefonici, postali..), ma ancor di più per la diffusissima reticenza che tutt'oggi aleggia attorno ad una condizione clinica per la quale, il più delle volte, non si richiede assistenza sanitaria, perché considerata una condizione para-fisiologica legata alla età, o peggior ancora, un tabù inconfessabile. Invece, oltre all'interesse medico per l'effetto sulla salute della persona, è importante ugualmente valutare l'impatto sociale ed economico che tale patologia determina, sia in termini di complicanze cliniche ed interpersonali dei soggetti affetti, sia in misura ancor più percettibile, per il grosso carico economico cui sono sottoposti i Sistemi Sanitari Nazionali.

L'incontinenza urinaria, infatti, in maniera più o meno variegata nel panorama europeo, genera costi ingenti[5], difficili da "misurare" e ampiamente sottovalutati, che possono essere distinti in

- costi diretti, per il controllo delle perdite urinarie (dispositivi assorbenti, protezione per la pelle), per la diagnosi e la terapia (visite mediche, visite specialistiche, indagini diagnostiche, trattamento farmacologico, chirurgico e riabilitativo), per il trattamento delle complicanze (infezioni delle vie urinarie, irritazioni della cute, traumi da caduta),
- costi indiretti: perdita di produttività lavorativa, raccolta e smaltimento dei rifiuti indifferenziati,
- costi intangibili: disagio psicologico, disfunzioni sessuali, peso emotivo dei familiari, sentimenti e comportamenti negativi da parte del personale sanitario nei confronti dei pazienti affetti

Benché gli studi clinici relativi ad una adeguata *Cost of Illness Analysis* siano pochi, parziali e presentino risultati molto variabili, i dati disponibili in Italia consentono comunque di affermare che l'incontinenza urinaria genera ogni anno costi per miliardi di euro.

Le pazienti affette, d'altra parte, sono in gran misura donne in post-menopausa, che oltre alla sintomatologia urinaria, presentano in aggiunta un corredo sintomatologico genitale ancor ampio, determinato dalla atrofia vulvo-vaginale e dalle conseguenze che da essa scaturiscono. L'atrofia vulvo-vaginale (AVV) è una condizione patologica che riguarda circa una donna su due in post-menopausa e i cui sintomi principali sono la secchezza vaginale (stimata del 75%), la dispareunia (stimata del 38%) ed il bruciore e/o dolore vaginale (stimato del 15%).

A partire dal 2014 circa è stata introdotta una più adeguata e completa definizione, nota col termine di *sindrome genitourinaria*, che raccoglie insieme i disturbi genitali e quelli relativi al basso tratto urinario, quali incontinenza, disuria, infezioni urinarie ricorrenti e sindrome della vescica iperattiva, altrimenti chiamata sindrome da urgenza-frequenza[6].

La nuova definizione di sindrome genito-urinaria sottolinea l'importanza di considerare tutti i disturbi della sfera pelvica che possono associarsi alla carenza estrogenica, e non soltanto le modificazioni atrofiche del tessuto vaginale. Al contrario della sintomatologia vasomotoria, che tende a diminuire con il tempo, la sindrome genitourinaria non si risolve spontaneamente e, se non trattata, spesso peggiora progressivamente, inficiando in maniera significativa la qualità della vita di donne, per lo più ancora socialmente e sessualmente attive.

La sindrome genitourinaria trova il suo razionale nella presenza di recettori per gli estrogeni non solo a carico dei tessuti vulvo-vaginali, ma anche livello del trigono vescicale e dell'uretra. L'ipoestrogenismo e la conseguente riduzione della componente collagenica sono alla base dell'assottigliamento che si verifica

a carico di questi distretti, con conseguente irritazione, discomfort e aumentata urgenza/frequenza minzionale. Inoltre, la riduzione degli estrogeni in perimenopausa causa un'alterazione a carico del microbiota vaginale, aumentando la suscettibilità nei confronti di infezioni vaginali ed urinarie. La perdita del collagene è inoltre responsabile della maggiore lassità delle strutture di sostegno del pavimento pelvico, determinando i quadri clinici dell'incontinenza urinaria e dei prolassi genitali.

Crescente è l'interesse della comunità scientifica verso il concetto di *bladder aging*, che focalizza l'attenzione proprio sulle alterazioni tissutali riscontrate a carico dell'urotelio e del detrusore, con aumento del pattern infiammatorio da un lato e della fibrosi dall'altro, con conseguente instabilità detrusoriale.

La nuova definizione di *sindrome genitourinaria* sottintende la necessità di promuovere nuovi sforzi clinici volti alla risoluzione - con meno risorse possibili - di un quadro sintomatologico più ampio, riducendo il più possibile gli elevati costi legati ai molteplici e simultanei trattamenti che si rendono necessari per il controllo di ogni singolo sintomo; infatti, se si tiene conto della comune eziopatogenesi che tali disturbi presentano, si può ambiziosamente tentare di individuare un prodotto "ideale" in grado di agire su più livelli della sindrome genitourinaria.

Sono attualmente disponibili diverse tipologie di trattamento per tale condizione, riconducibili per lo più alle alternative terapeutiche previste per la gestione dell'atrofia vulvo-vaginale.

Da sempre, la terapia ormonale sostitutiva sistemica e l'utilizzo degli estrogeni topici hanno rappresentato un valido approccio per il trattamento dei sintomi climaterici locali. La somministrazione intravaginale di preparati ormonali ha il vantaggio di garantire un'azione locale a fronte di un minor assorbimento sistemico. Va precisato tuttavia che, come riportato dal Women's Health Initiative

Study, andrebbe somministrata la dose di estrogeni intravaginale più bassa e per il minor tempo possibile[7]. D'altra parte, lo studio EU REVIVE, condotto anche in Italia in donne in post-menopausa, ha evidenziato che l'esposizione agli estrogeni preoccupa circa il 35% delle donne[8].

La ricerca di alternative terapeutiche sempre più accettabili ha condotto all'osservazione che, mentre è ampiamente risaputo che la secrezione di estrogeni ovarici si riduce drasticamente in post-menopausa, le ghiandole surrenaliche e, in misura minore, le ovaie stesse, continuano a produrre un ormone di per sé inattivo, il DHEA, che tuttavia rappresenta l'unico precursore degli ormoni steroidei dopo la menopausa. Ciò grazie ad un meccanismo di *intracrinologia* secondo il quale il DHEA sarebbe in grado di essere convertito in estrogeni e/o androgeni esclusivamente nelle cellule e nei tessuti che possiedono gli enzimi in grado di effettuare tale conversione[9].

A partire dal 4 aprile 2017 è stato approvato negli USA l'impiego del DHEA intravaginale (Prasterone) per il trattamento della dispareunia associata ad AVV menopausale. Sulla base del concetto che gli ormoni steroidei possano avere un'azione locale tissutale indipendentemente dai livelli circolanti (intracrinologia), il DHEA è stato somministrato per via vaginale in ovuli con una base lipofilica alla dose di 0.25% (3.25 mg) fino a quella dell"1% (13 mg DHEA). Studi randomizzati di fase 3 condotti in donne in postmenopausa hanno dimostrato che il DHEA, gli estrogeni e numerosi metaboliti non aumentano in circolo oltre il range di normalità per la postmenopausa, dopo 12 settimane di trattamento con DHEA per via vaginale. I dati relativi all'efficacia hanno documentato miglioramenti significativi a tutte le dosi rispetto al placebo su tutti i parametri di maturazione vaginale, con una riduzione del pH, un miglioramento dei sintomi clinici di atrofia, così come con una riduzione del dolore durante l'attività sessuale. È stato interessante osservare, che nonostante l'assenza di un

effetto steroideo sistemico, il DHEA per via vaginale ha migliorato numerosi parametri della funzione sessuale, incluso il dominio del desiderio sessuale[9].

La trasformazione intracellulare di DHEA in estrogeni è verosimilmente responsabile della maturazione delle cellule para-basali, che vengono trasformate in cellule intermedie e quindi in cellule superficiali. In più è stato dimostrato che il DHEA induce la secrezione di muco da parte dello strato superficiale dell'epitelio, mentre aumenta la densità delle fibre collagene della lamina propria e stimola lo strato muscolare[9].

Il solo trattamento della secchezza vaginale, di fatto non sempre riesce ad esercitare il suo effetto su una più specifica sintomatologia urinaria: infatti, il trattamento topico dell'atrofia vulvo-vaginale con gli estrogeni è essenzialmente limitato allo strato più superficiale o epiteliale, le cui alterazioni sono senz'altro responsabili della dispareunia. Tuttavia, alterazioni anatomiche quali il restringimento dell'introito, l'accorciamento del canale vaginale, l'ipermobilità uretrale, non sono correlati alle modifiche dello strato superficiale, bensì dipendono dalla perdita di collagene e delle componenti muscolari, che occupano gli strati più profondi della lamina propria e della muscolatura. Anche la perdita di rugosità ed elasticità della vagina appare legata alla frammentazione del collagene che si verifica in post-menopausa. Dati della letteratura hanno chiaramente dimostrato che, laddove si ferma l'effetto degli estrogeni, lì si colloca l'azione stimolante degli androgeni, derivati dal DHEA, sulla formazione di collagene nel secondo strato della vagina, ovvero la lamina propria. Alla conversione in androgeni, inoltre, sarebbe correlata anche un'azione ipertrofica sullo strato muscolare, con potenziamento delle strutture di sostegno del pavimento pelvico. Le alternative terapeutiche in grado di determinare una neocollagenesi, come il trattamento laser dell'atrofia vulvo-vaginale, hanno già ampiamente documentato un effetto positivo sull'incontinenza urinaria da sforzo lieve, ripristinando il meccanismo di sostegno ad amaca, sottouretrale, mediante

rafforzamento delle strutture di sostegno pelvi-perineali. Buoni risultati sono stati altresì ottenuti sulla sintomatologia da urgenza urinaria e sulla urge incontinence associata.

Tali osservazioni fanno sì che il DHEA possa trovare un adeguato impiego anche nel più ampio corredo sintomatologico della sindrome genito-urinaria. Ciò potrebbe rappresentare il razionale per l'utilizzo del DHEA intravaginale nel trattamento di tali affezioni uroginecologiche, in virtù del suo effetto sugli strati più profondi dell'epitelio vaginale. La trasformazione periferica di DHEA in estrogeni, appare vantaggiosa anche negli strati più superficiali, laddove previene la diminuzione del glicogeno che si accompagna ad un aumento del pH vaginale, cui conseguono la modifica della microflora e un maggiore rischio di infezioni.

Le premesse di cui sopra hanno autorizzano a pensare che il miglioramento locale dei tessuti attraverso un trattamento farmacologico topico con DHEA intravaginale avrebbe potuto determinare una netta riduzione dei sintomi vaginali, ripristinando da un lato un ambiente vaginale e uretrale sfavorevole alla crescita batterica, con minor rischio di infezioni vescicali, e riducendo dall'altro la sintomatologia irritativa vaginale, legata all'assottigliamento dei tessuti per perdita delle fibre di collagene, a sua volta causa di disfunzioni del pavimento pelvico e di sintomi urinari quali urgenza e aumentata frequenza minzionale. L'azione esercitata sullo strato muscolare, infine, potrebbe determinare un potenziamento dell'azione di sostegno delle strutture pelvi-perineali, migliorando anche i quadri di incontinenza urinaria lieve.

Prima di entrare nel vivo del progetto di ricerca, appare doveroso fornire qualche richiamo più dettagliato circa l'incontinenza urinaria e la più ampia

definizione di sindrome genito-urinaria, soffermandoci altresì sulle strategie terapeutiche finora utilizzate per il loro trattamento.

CAPITOLO 2 – L'INCONTINENZA URINARIA FEMMINILE

2.1 Generalità

L'IU è una condizione patologica caratterizzata dalla perdita involontaria di urina. È una patologia comune nelle donne la cui prevalenza aumenta con l'aumentare dell'età, variando dal 15 al 50%[3].

Le incontinenze sono state classificate in diversi tipi:

- da sforzo: perdita involontaria di urine in seguito ad attività fisica di qualsiasi natura che comporti un aumento improvviso della pressione endo-addominale (starnuti, tosse, risata, sollevamento pesi);

- da urgenza: perdita involontaria di urina accompagnata o immediatamente preceduta da urgenza urinaria, ovvero uno stimolo imperioso ad urinare;

- mista: associazione delle due sintomatologie urinarie sopra esposte;

- funzionale: minzione inappropriata dovuta a disabilità fisica o a problemi ideativi che impediscono di raggiungere per tempo la toilette;

- da *overflow*: perdita inattesa di piccole quantità di urina dovute ad una vescica sovra distesa;

- transitoria, causata da condizioni non definitive (come ad esempio infezioni, farmaci);

- da cause anatomiche: fistole o malformazioni.

Una menzione a parte merita la sindrome della *vescica iperattiva (OAB)*, un disturbo della fase di riempimento caratterizzata dalla necessità di effettuare minzioni frequenti, dalla presenza di nicturia e urgenza minzionale.

Nell'incontinenza da urgenza la perdita di urine è più abbondante rispetto a quella che si verifica nell'IUS. Si distinguono in particolare una forma motoria dovuta all'iperattività del detrusore causata da una sua instabilità o da una sua iperriflessia, una forma sensoriale causata da una ipersensibilità del muscolo, una forma riflessa causata dall'iperriflessia del detrusore o a un rilasciamento involontario dell'uretra e una forma infettiva dovuta ad uretro-cistiti acute[10]

2.2 Eziopatogenesi

I fattori etiopatogenetici dell"incontinenza urinaria, che riflettono anche i fattori di rischio, sono qui di seguito riportati[3,11,12,12,14,15]

- **Età**. La prevalenza aumenta gradualmente con l'età. Il tipo di incontinenza differisce in base all'età; alcuni studi suggeriscono una più alta prevalenza di incontinenza da sforzo in donne di età inferiore ai 60 anni e di incontinenza da urgenza in donne di età più avanzata.

- **Obesità**. Un BMI elevato è un fattore significativo e indipendente per IUS. Teoricamente l'aumento della pressione endoaddominale che coincide con un BMI elevato determina una pressione intravescicale proporzionalmente più alta che supera la pressione di chiusura uretrale e causa incontinenza.

- **Menopausa**. Alcuni studi suggeriscono un aumento dell'incontinenza urinaria dopo la menopausa ma è difficile distinguere gli effetti dell'ipoestrogenismo da quelli legati all'età. Sono stati identificati recettori per gli estrogeni ad alta affinità al livello dell'uretra, del muscolo pubococcigeo e del trigono vescicale. La carenza estrogenica postmenopausale determina riduzione dell'altezza

dell'epitelio, riduzione della vascolarizzazione sottomucosa, riduzione dei recettori estrogenici sulle cellule muscolari e modificazione del collagene.

- **Gravidanza e parto**. La gravidanza e ancor più la multiparità sono ritenuti i principali fattori di rischio per IUS, per le alterazioni anatomo-funzionali del sistema muscolo-fasciale e della sua innervazione dovute al trauma ostetrico, probabilmente anche sulla base della costituzione individuale del connettivo che determina danni differenti in risposta a traumi di intensità sovrapponibile. Durante la seconda fase del travaglio di parto, la testa fetale distende e stira le strutture del pavimento pelvico. Un eccessivo stiramento può determinare la rottura delle strutture connettivali e muscolari.

- **Pregressi interventi chirurgici** come isterectomia, aumentano il rischio relativo di incontinenza urinaria a prescindere dall'accesso chirurgico (laparotomico o vaginale).

- Il **diabete** può inficiare nel tempo l'attività del muscolo fasciale sia direttamente a causa della neuropatia periferica, sia indirettamente mediante riduzione della vascolarizzazione tissutale.

- Altri fattori come lo sforzo, il fumo di sigaretta, la caffeina e l'alimentazione peggiorano ulteriormente la condizione patologica.

2.3 Meccanismo della continenza

Fisiologicamente la continenza è determinata:

- dall'integrità delle strutture del pavimento pelvico che permettono di mantenere la posizione intra-addominale della porzione prossimale dell'uretra e della vescica e di mantenere l'angolo vescico-uretrale tra i 90° e i 110°;
- dall'integrità anatomo-funzionale della vescica e dell'uretra, in particolare dall'efficienza del meccanismo sfinteriale uretrale;

- dal controllo di tali strutture da parte del sistema nervoso che, grazie a complessi riflessi nervosi periferici e centrali, consente al sistema vescico-sfinterico di operare in totale autonomia (sistema nervoso autonomo) ma con la possibilità di essere controllato dalla nostra volontà (sistema nervoso volontario).

Nello specifico, nella fase di riempimento vescicale vi è la prevalenza del tono simpatico noradrenergico che mantiene il muscolo detrusore della vescica rilassato, mentre lo sfintere uretrale e il trigono vescicale sono contratti. Nella fase di svuotamento invece prevale il tono parasimpatico colinergico che permette la contrazione del detrusore e il rilassamento dello sfintere uretrale e del trigono. Tale processo è sotto il controllo della corteccia e dei nuclei pontini della minzione che intervengono nel controllo volontario della minzione permettendo di espletare lo svuotamento quando vi siano le condizioni adatte.

In seguito al calo degli estrogeni e degli androgeni conseguenti alla menopausa anche le strutture del basso tratto urinario subiscono delle modificazioni atrofiche simili a quelle che accadono a livello vulvo-vaginale. Tali modificazioni si rendono responsabili della genesi dei sintomi dell'IU che risulta presente in circa 30% delle donne over 65 affette da GSM.

Ciò viene spiegato dal fatto che anche a livello del trigono uro-genitale sono presenti recettori per gli estrogeni.

Attraverso la loro azione su tali recettori, gli estrogeni contribuiscono:

- a mantenere il meccanismo di chiusura dell'uretra, indispensabile per il mantenimento della continenza, grazie all'azione trofica diretta sull'epitelio uretrale, sulla vascolarizzazione, sul tessuto connettivo parauretrale e sui legamenti e muscoli del pavimento pelvico;

- a mantenere la soglia sensoriale dei pressocettori subepiteliali del trigono urogenitale.

A tali effetti si associa l'azione plastica e facilitatrice sui neurotrasmettitori adrenergici e colinergici, fondamentali per i processi di chiusura uretrale e svuotamento vescicale.

Con l'avvento della menopausa, tali azioni a livello uretrale e vescicale vengono meno causando alterazioni strutturali e funzionali alla base dell'insorgenza della *sindrome da vescica iperattiva* e dell'incontinenza, più nello specifico dell'incontinenza urinaria da urgenza (IUU). In particolare, riducendosi l'azione trofica sui tessuti si osserva: l'ipotrofia dell'epitelio del trigono e del corpo vescicale che quindi causa un maggior contatto dell'urina con i pressocettori portando all'insorgenza di sintomi irritativi urinari quali pollachiuria, urgenza minzionale, nicturia e IUU; la riduzione della capacità vescicale e della forza di contrazione del detrusore per l'ipotonia della muscolatura liscia; la riduzione del tessuto collagene, della vascolarizzazione e della forza dei tessuti di sostegno del pavimento pelvico; l'atrofia della mucosa uretrale con accorciamento e prominenza del meato uretrale responsabili della sua maggior mobilità, della perdita del fisiologico angolo uretro-vescicale e della riduzione della pressione di chiusura. A tali cambiamenti si associano la maggior frequenza di infezioni quali uretriti e cistiti a causa delle alterazioni nell'ambiente vulvo-vaginale che causano disuria, urgenza minzionale e contribuiscono all'insorgenza dei sintomi di IUU.

Al fine di diagnosticare la presenza di vescica iperattiva e di IUU, oltre alla raccolta anamnestica e all'utilizzo di questionari validati che indagano la presenza, la frequenza e l'impatto sulla qualità di vita dei sintomi, può essere utile eseguire l'esame urodinamico che evidenzierà una ridotta capacità vescicale

(<300 ml) con o senza segni obiettivi di contrazioni detrusoriali involontarie e/o di incontinenza da urgenza.

La presenza di sintomi urinari nelle donne in post-menopausa ha un forte impatto sulla loro qualità di vita. La presenza di urgenza minzionale specie se associata a IUU è stata correlata all'insorgenza di depressione e imbarazzo da parte di chi ne è affetto limitando fortemente la vita sociale, lavorativa e di relazione con il proprio partner[16].

2.4 Trattamento dell'incontinenza da urgenza

Il trattamento tradizionale dell'incontinenza da urgenza prevede[16]:

1. *cambiamenti nello stile di vita* (es. evitare il fumo di sigaretta, ridurre i cibi irritanti quali caffè e alcolici, adeguato introito di liquidi e controllo del peso corporeo);
2. il *trattamento riabilitativo* di rieducazione vescicale, che ha l'obiettivo di correggere le abitudini di svuotamento, migliorare la capacità di sopprimere l'urgenza e aumentare la capacità e la compliance della vescica. A questo si associano programmi di riabilitazione della muscolatura pelvica che hanno l'intento di rinforzare la stessa fornendo un maggior controllo sulla contrazione vescicale.
3. il *trattamento farmacologico* a base di anticolinergici e beta 3 agonisti capaci di sopprimere le contrazioni vescicali e migliorare la capacità vescicale. Tali farmaci hanno mostrato una notevole efficacia ma sono gravati da effetti collaterali che spesso ne causano la sospensione. Recentemente anche la terapia con infiltrazioni vescicali di tossina botulinica si è dimostrata una valida alternativa ai trattamenti farmacologici a lungo termine e nell'incontinenza refrattaria;
4. la *neuromodulazione sacrale.*

L’osservazione del ruolo fondamentale della carenza di estrogeni ed androgeni nell’insorgenza dei sintomi da urge incontinence e vescica iperattiva ha portato ad ipotizzare che l’utilizzo combinato della terapia estrogenica con gli antimuscarinici potesse essere una buona soluzione per il trattamento di tali sintomi nelle donne affette da GSM. Il loro effetto sinergico infatti permetterebbe di ridurre il dosaggio degli antimuscarinici e quindi dei loro effetti collaterali, migliorando anche l’aderenza al trattamento.

Una review sistematica del 2014 ha rilevato evidenze di qualità moderata a supporto dell’utilizzo della ET vaginale per migliorare i sintomi della frequenza urinaria e urgenza, nicturia, disuria e della IUS[17].

Essa sembrerebbe migliorare la vascolarizzazione intorno alla regione periuretrale e al collo vescicale e sembrerebbe ridurre la frequenza delle contrazioni del detrusore promuovendo il suo rilassamento. Al contrario della terapia locale, la terapia ormonale sistemica non sembrerebbe apportare miglioramenti sui sintomi urinari della GSM, ma al contrario sembrerebbe peggiorare l’incontinenza[17].

Vari studi sono stati condotti per valutare l’efficacia della terapia estrogenica vaginale rispetto alla terapia a base di antimuscarinici o alla terapia riabilitativa del pavimento pelvico. Da tali studi è emerso che:

- la sola terapia con estrogeni intravaginali migliora di per sé i sintomi dell’incontinenza urinaria causati dalla GSM;
- la terapia con estrogeni combinati equini (ECE) per via vaginale è inferiore rispetto al trattamento pelvico riabilitativo mentre la terapia con estriolo in combinazione al trattamento riabilitativo è più efficace rispetto alle singole terapie;

- il trattamento con anello vaginale a base di estradiolo ha mostrato simile efficacia rispetto alla somministrazione di ossibutina ma con più effetti collaterali per quest'ultima.

Le linee guida NAMS del 2020 suggeriscono di iniziare una terapia a base di estrogeni locali in donne affette da GSM in cui siano presenti sia sintomi vulvo-vaginali che urinari. Se i sintomi urinari dopo 3 mesi di terapia non sono sufficientemente migliorati, si suggerisce l'utilizzo delle altre terapie specifiche per il trattamento dell'incontinenza[18].

CAPITOLO 3 – LA SINDROME GENITOURINARIA DELLA MENOPAUSA

3.1 Definizione

La *"Sindrome Genitourinaria della Menopausa" (GSM)* è una condizione cronica caratterizzata dall'insieme di segni e sintomi associati al calo degli estrogeni e degli altri steroidi sessuali che coinvolgono le strutture genitali inferiori (grandi e piccole labbra, clitoride, vestibolo e vagina) e il tratto inferiore delle vie urinarie (uretra e vescica).[6]

Tale condizione è caratterizzata dalla presenza di:

- sintomi vulvo-vaginali: secchezza, prurito, bruciore e irritazione;
- sintomi urinari: urgenza minzionale, disuria e infezioni ricorrenti;
- sintomi della sfera sessuale: perdita della lubrificazione, dispareunia soprattutto introitale, sanguinamento post-coitale e riduzione dell'eccitazione, degli orgasmi e del desiderio.

I segni associati sono invece rappresentati da:

- riduzione dell'umidità e dell'elasticità della mucosa vaginale:

- atrofia dei tessuti vulvo-vaginali e perdita delle pliche vaginali;
- pallore /eritema;
- fragilità tissutale/ragadi/petecchie;
- eversione uretrale o prolasso;
- assottigliamento dei residui imeneali
- prominenza del meato uretrale
- retrazione introitale
- infezioni ricorrenti del tratto urinario (UTIs)

A tale condizione si associa l'aumento del pH vaginale (pH>5) determinato dalla ridotta produzione di glicogeno e dei normali processi di secrezione e trasudazione. Ne consegue un'alterazione della normale flora vaginale, con diminuzione del Bacillo di Doderlein, e una maggiore predisposizione ad infezioni da parte di batteri colici.

Rientra tra i sintomi della sindrome GSM anche l'atrofia vulvo-vaginale (VVA), entità che fino a pochi anni fa veniva considerata come una condizione a sé stante, ma che mal descriveva tutto il corteo di sintomi che la caratterizzava.

La VVA, ossia la degenerazione di tutti i tipi di cellule che compongono l'architettura dei tessuti vaginali e vulvari causata dalla carenza degli steroidi sessuali dopo la menopausa, si traduce nella sensazione di secchezza, irritazione e bruciore per la donna. Oggi sappiamo che tali alterazioni coinvolgono anche il trigono vescicale e l'uretra prossimale determinando una serie di sintomi urinari che di fatto difficilmente possono essere riconosciuti separatamente da quelli più strettamente vulvo-vaginali.

Alla luce di tali osservazioni, due società scientifiche internazionali, la Board of Directors of the International Society for the Study of Women's Sexual Health (ISSWSH) e la Board of Trustees of The North American Menopause Society (NAMS), si sono riunite nel maggio 2013 in una *consensus conferens*, al

termine della quale fu stabilito che il termine più appropriato per descrivere tutti i segni e sintomi urogenitali che appaiono molesti per la donna in menopausa fosse pertanto ***"Sindrome genitourinaria della menopausa"*** (Genitourinary Syndrome of the Menopause, GSM).[6]

Le ragioni per la quale sono coinvolti sia i tessuti vulvo-vaginali che i tessuti del tratto inferiore delle vie urinarie sono molteplici.

In primis, la *comune origine embrionaria* dal seno urogenitale primitivo e la *stessa sensibilità agli ormoni sessuali*, grazie alla presenza di recettori per gli estrogeni e testosterone in questi tessuti. Ne consegue che entrambi abbiano la *stessa sensibilità alla perdita degli ormoni sessuali* dopo la menopausa, anche se differenze genetiche possono causare maggiori sintomi a carico di un organo rispetto ad un altro. Altre ragioni riguardano l'*innervazione in parte condivisa*, la *comune vulnerabilità biomeccanica durante i rapporti* e la *presenza di una flora microbica vaginale* che, quando alterata, può causare sia vaginiti che uretriti e/o cistiti per la stretta vicinanza anatomica.[19,20]

3.2 Epidemiologia

La GSM è un disturbo comune ma allo stesso tempo sotto-diagnosticato e di conseguenza poco trattato a causa sia della reticenza da parte delle pazienti, sia perché non correttamente percepito dalle stesse come un reale problema di salute, bensì conseguenza del naturale processo di invecchiamento.

Ad oggi, molti studi hanno cercato di dare una dimensione della prevalenza della GSM.

Secondo i dati più recenti tale sindrome affligge tra il 50 e il 70% delle donne in post-menopausa, con una prevalenza che aumenta all'aumentare dell'età. Da ultime *review* emerge come i primi sintomi correlati alla GSM inizino già durante il periodo della pre-menopausa con una prevalenza del 15%.[21,22] In

Italia la prevalenza non si discosta dalla media degli altri Paesi Europei. Nel "*The AGATA Study*" di F. Palma e collaboratori, il 79.1% delle donne in post-menopausa coinvolte nello studio era affetto da GSM, con una prevalenza variabile dal 64.7% ad un anno dalla menopausa, fino all'84.2% nei sei anni successivi. Dato importante, inoltre, è che tra queste donne solo il 29,1% aveva già ricevuto diagnosi di GSM, mentre il restante 50% non sapeva di esserne affetta, a conferma del fatto che anche in Italia tale patologia appare ancora poco diagnosticata e sotto-stimata.[23]

3.3 Contesto clinico: la menopausa

La menopausa è rappresenta dalla cessazione dei cicli mestruali per l'esaurimento del patrimonio follicolare ovarico.

Tale condizione può insorgere spontaneamente, come evoluzione naturale del processo d'invecchiamento ovarico, o in seguito a chirurgia, chemioterapia e/o radioterapia pelvica, patologie immunitarie, infezioni, sindromi genetiche. La donna viene considerata in post-menopausa allorquando si accerta la presenza di almeno 12 mesi consecutivi di amenorrea, indipendentemente da altre cause.

L'età media di insorgenza della menopausa naturale si stima essere di 51,4 anni nella popolazione caucasica[24]; in Italia è di 50,8 anni.

In genere essa insorge in donne di età compresa tra i 45 e i 55 anni e si definisce *precoce* allorquando si presenta al di sotto dei 40 anni.

La menopausa rappresenta un significativo problema di *Sanità Pubblica* sia perché riguarda l'intera popolazione femminile, sia perché le donne, la cui età

media è notevolmente aumentata negli ultimi decenni, rappresentano una percentuale sempre più alta della popolazione totale.

Il quadro clinico e ormonale della donna in questa fase è caratterizzato da una serie di progressive modificazioni derivanti dal progressivo deficit di estrogeni, progesterone ed androgeni che inizia già negli ultimi anni del periodo riproduttivo. Nel 2001 lo *Stages of Reproductive Aging Workshop* (STRAW), ha proposto una nomenclatura dei vari stadi dell'età riproduttiva, poi riaggiornata nel 2011 dallo *Stages of Reproductive Aging Workshop +10*.[25] Secondo questo sistema di classificazione (Figura 1), è possibile suddividere gli stadi di riproduzione della donna in tre fasi principali:

1. Fase riproduttiva;
2. Fase di transizione menopausale;
3. Fase post-menopausale:

Tali fasi sono state individuate tenendo in considerazione principalmente le caratteristiche del ciclo mestruale che, con l'avanzare degli anni, subisce progressive variazioni fino alla sua definitiva cessazione.

A supporto di quanto argomentato sono stati valutati sia criteri endocrini, in particolare sono stati dosati i livelli di FSH, AMH e INIBINA B, sia la conta dei follicoli antrali ed infine i sintomi descritti dalle pazienti.

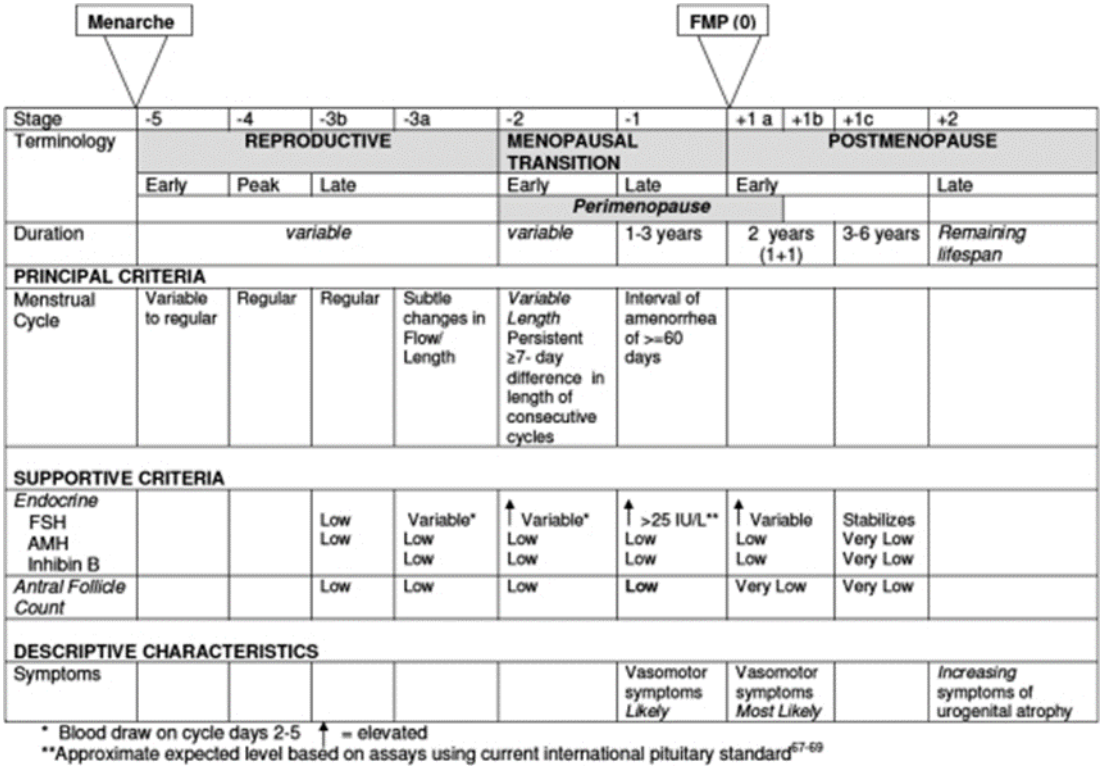


Figura 1: The Stages of Reproductive Aging Workshop + 10 staging system for reproductive aging in women.

Dai dati mostrati in Figura1 si può intuire come il progressivo deficit degli steroidi sessuali, ed in particolare la carenza degli estrogeni derivata dal depauperamento della funzionalità ovarica, provochi l'insorgenza di sintomi che si manifestano già in fase peri-menopausale tardiva, e che man mano essi predispongano i vari tessuti dell'organismo ai cambiamenti tipici della menopausa. In particolare, possiamo distinguere sintomi precoci, intermedi e tardivi della menopausa.

Tra i sintomi precoci (insorgenza tra i 40 e i 50 anni) sono annoverati:

- Sintomatologia vasomotoria
- Sudorazione
- Insonnia
- Irregolarità mestruali

- Attacchi di ansia
- Irritabilità

Essi hanno un forte impatto psicologico sulla vita della donna, ma in genere tendono a diminuire nel tempo. La loro insorgenza riguarda gli effetti del deficit di estrogeni a livello del sistema nervoso centrale, tant'è che per attenuare la sintomatologia vasomotoria, oltre alla somministrazione di estrogeni, sono stati proposti anche gli SSRI come opzione terapeutica per le donne non candidate alla terapia ormonale.[26]

I sintomi intermedi (insorgenza dopo i 55 anni) comprendono:

- Atrofia vaginale
- Dispareunia
- Incontinenza urinaria
- Atrofia cutanea
- Disturbi dell'olfatto e dentari
- Diminuzione o perdita della libido

Tali sintomi, che includono le caratteristiche della GSM, al contrario dei primi, non tendono a diminuire col tempo, ma al contrario, se non trattati o in parte prevenuti, portano a un progressivo deterioramento dei tessuti interessati e, quindi, a vari deficit funzionali che si ripercuotono sulla salute fisica e psicologica della donna.

In ultimo, e ancora più importanti, abbiamo i sintomi tardivi (insorgenza dopo i 60 anni) che comprendono:

- Osteoporosi/fratture
- Arteriosclerosi
- Coronaropatie

- Patologie cerebrovascolari
- Cancro

Tali sintomi sono i più tardivi, i più gravi in termini di morbidità e mortalità, ma anche quelli che, con il giusto intervento terapeutico precoce, possono essere prevenuti o rallentati.

3.4 Eziopatogenesi

L'ipoestrogenismo conseguente alla menopausa rappresenta la causa patogenetica principale della GSM.

I fattori di rischio associati, oltre alla menopausa, riguardano il fumo di sigaretta, la nulliparità, l'abuso di alcol, la sedentarietà, l'astinenza dai rapporti, l'ovariectomia bilaterale e altre cause di ipoestrogenismo come terapie farmacologiche, disordini endocrini e trattamenti oncologici[21].

Fisiologicamente nella donna sono prodotti 3 tipi di estrogeni: estradiolo, estrone ed estriolo.

In età fertile la quota principale di estrogeno circolante è rappresentata dal 17β-estradiolo (V.N. 40-400 pg/ml), sintetizzato dalle cellule della granulosa dei follicoli ovarici a partire dagli androgeni. Esso rappresenta la forma con maggiore affinità per i recettori estrogenici ERα ed ERβ.

Dopo la menopausa i suoi livelli calano bruscamente (<20 pg/ml) e l'estrogeno maggiormente rappresentato diventa l'estrone, che possiede un'affinità recettoriale di molto inferiore. Quest'ultimo viene prodotto a partire dall'androstenedione principalmente dai tessuti periferici, soprattutto dal tessuto adiposo, fegato e ghiandole surrenali, e in minor misura dalle ovaie.[21,22]

L'estriolo, infine, è prodotto a livello del fegato e rappresenta il metabolita finale di estradiolo ed estrone. I suoi valori sono di molto inferiori rispetto a quelli

delle altre due forme di estrogeno e la sua affinità recettoriale è minima rispetto a quella dell'estradiolo.

Con l'avvento della menopausa non si assiste solo alla diminuzione dei livelli di estrogeni, ma anche a un depauperamento dei suoi recettori a livello tissutale. In particolare si osserva una riduzione dei recettori β a livello vaginale[27], responsabile dei sintomi correlati alla VVA.

Nello specifico, la carenza di estrogeni provoca alterazioni anatomo-funzionali dei tessuti vulvo-vaginali, i quali perdono collagene ed elastina. Si ha una riduzione della vascolarizzazione e la perdita della capacità contrattile delle cellule muscolari lisce. Tali fenomeni sono alla base dell'assottigliamento della mucosa e della ridotta elasticità che si verifica in questi distretti con conseguente pallore, fragilità tissutale e perdita delle pliche vaginali. A livello vulvare, inoltre, si ha la riduzione dei peli pubici, del tessuto adiposo sottocutaneo, delle dimensioni delle piccole labbra e del vestibolo vulvare, la retrazione dell'introito vaginale e l'involuzione dei residui imenali con perdita dell'elasticità tissutale.[28]

L'atrofia è altresì correlata ai cambiamenti che avvengono nelle cellule epiteliali vaginali. In particolare si assiste ad un aumento del numero delle cellule parabasali e ad una riduzione delle cellule superficiali. La riduzione della vascolarizzazione e delle cellule superficiali portano ad una conseguente riduzione delle secrezioni, ovvero ad una diminuzione del glicogeno che causa una alterazione della flora microbica vaginale normalmente costituita dalla predominanza di lattobacilli che utilizzano il glucosio come fonte energetica, con produzione di acido lattico e acido acetico. La perdita dei lattobacilli favorisce quindi l'aumento del pH dell'epitelio vaginale (tra 5.0 e 7.5) che promuove la proliferazione di batteri appartenenti alla flora intestinale ed epidermica inclusi streptococchi di tipo B, stafilococchi, E. Coli e altri batteri gram negativi che causano una maggior predisposizione ad infezioni, infiammazioni e UTI.

La comune origine embrionale dal seno urogenitale fa sì che i recettori per gli estrogeni, sia di tipo α che β, siano presenti non solo a carico dei tessuti vulvo-vaginali e delle sue terminazioni nervose sensitive ed autonomiche, ma anche a livello del trigono vescicale e dell'uretra, per cui la loro diminuzione spiega i cambiamenti che caratterizzano anche queste strutture.

L'uretra diventa atrofica e prominente con un relativo incremento delle cellule di transizione ed una riduzione delle cellule intermedie e squamose superficiali. Si assiste ad un rimodellamento della vescica con riduzione del trofismo del tessuto muscolare liscio e del collagene. Ciò comporta una riduzione nella forza contrattile del detrusore, della capacità e sensibilità vescicale, della pressione di chiusura uretrale e del flusso urinario[28,29].

La riduzione dei recettori ER nel trigono si rende responsabile anche di una alterazione della soglia sensoriale della vescica che normalmente aumenta quando questa si riempie. La riduzione di estrogeni fa sì che tale soglia diminuisca e che vi sia una riduzione della pressione al punto di perdita, andando a determinare incontinenza da urgenza e iperattività vescicale[22]. Inoltre la perdita di collagene si rende responsabile anche della maggior lassità delle strutture di sostegno del pavimento pelvico contribuendo così alla genesi dei quadri clinici di prolasso genitale e incontinenza urinaria caratterizzanti la GSM.

I cambiamenti ormonali che avvengono nella donna nel passaggio dall'età fertile alla menopausa non riguardano solo la produzione di estrogeni, ma anche quella degli androgeni. Gli androgeni, nello specifico il *deidroepiandrosterone* (DHEA) e la sua forma attiva *DHEA-solfato*, l'*androstenedione*, il *testosterone* e il *5α-diidrotestosterone*, sono sintetizzati principalmente dalle ovaie, dalle ghiandole surrenali e in minor misura dai tessuti periferici a partire dal colesterolo.

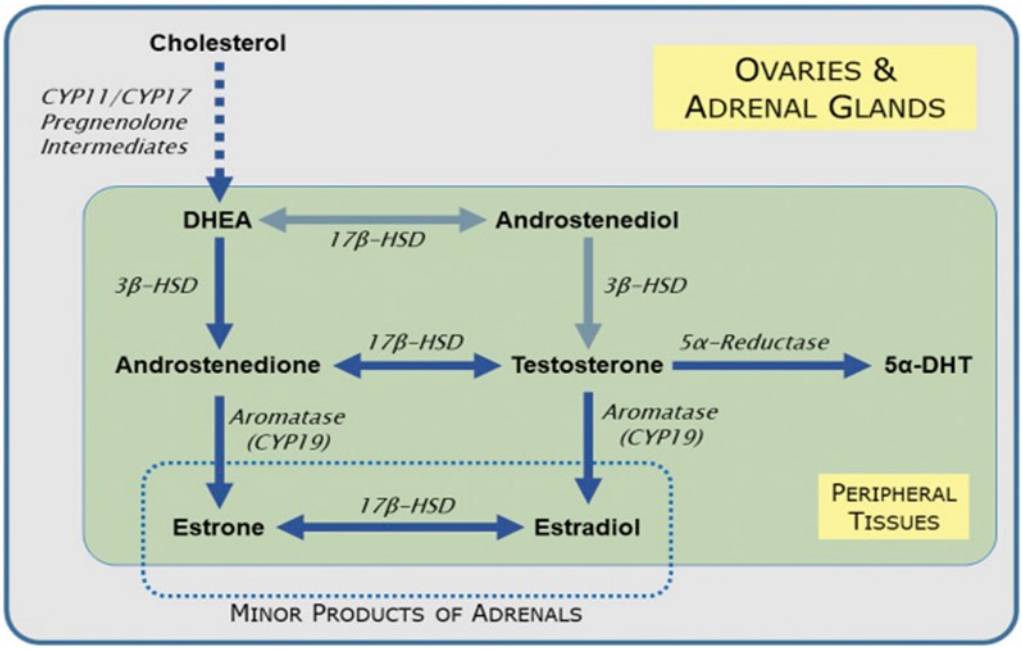


Figura 2: Sintesi degli androgeni. (Traish AM et al. Sexual medicine reviews, 2018, vol 6,4:558-571)

Essi svolgono un ruolo fondamentale, non solo perché sono i precursori degli estrogeni, ma anche perché interagendo con i loro recettori (AR) contribuiscono a mantenere il benessere dei tessuti genitali, della libido e della sessualità. È stato dimostrato che i recettori AR si trovano anche a livello dei tessuti uro-genitali, a livello della muscolatura del pavimento pelvico ed infine a livello delle terminazioni nervose dove modulano la sintesi dei neurotrasmettitori.

La loro funzione è stata studiata sia nelle donne in post-menopausa che nei ratti ovariectomizzati, e si è visto come il loro contributo, in sinergismo all'azione degli estrogeni, sia fondamentale per mantenere il trofismo e la vascolarizzazione dei tessuti uro-genitali mediante la sintesi di proteine, enzimi e fattori crescita. Oltre a tali funzioni, contribuiscono al tono della muscolatura del pavimento pelvico e alla stimolazione delle terminazioni nervose vaginali[30].

Fisiologicamente, i livelli di androgeni sono più elevati rispetto a quelli degli estrogeni, raggiungendo il picco tra il ventesimo e il trentesimo anno di età. Dopo i trent'anni i loro livelli diminuiscono progressivamente contribuendo

quindi, insieme al calo degli estrogeni, ai cambiamenti che caratterizzano la GSM[31].

Da quanto detto, appare chiaro che il trattamento ideale della GSM sia la terapia ormonale sostitutiva. La somministrazione esogena di estrogeni o, in alternativa, di suoi precursori (DHEA intravaginale), soprattutto se attuata precocemente, può non solo migliorare i sintomi della patologia, ma anche prevenirli, ritardando la loro insorgenza nel tempo. Ciò trova il suo razionale nel fatto che durante il periodo post-menopausale la quota di recettori continua a decrescere a causa dei bassi livelli ormonali ma non scompare completamente, per cui una terapia sostitutiva permetterebbe la ricostituzione dei recettori persi e il mantenimento delle loro funzioni fisiologiche a livello dei tessuti uro-genitali.

3.5 Diagnosi

La diagnosi della GSM può rappresentare una vera e propria sfida per lo specialista.

Ciò è dovuto al fatto che le manifestazioni cliniche di tale sindrome sono molteplici, aspecifiche in più della metà delle pazienti e spesso di una severità non tale da richiedere un consulto medico.

A ciò va aggiunto che molti dei sintomi correlati alla GSM come la secchezza vaginale o la perdita del desiderio, sono considerati dalle pazienti normali problemi correlati all'età che possono attenuarsi con il tempo, così come accade per la sintomatologia vasomotoria, e per tale motivo non meritevoli di approfondimenti.

La salute dell'apparato genitale femminile ha però un ruolo cruciale per il mantenimento della vita sessuale della donna e sulla sua qualità di vita.

Nello studio EU REVIVE si è visto come i sintomi correlati alla VVA in una coorte di donne italiane interferivano soprattutto sulla soddisfazione sessuale

(74%), sulla spontaneità sessuale (70%) e sulla relazione col proprio partner (66%)[32], per cui risultano essere la causa principale del *discomfort* nei rapporti sessuali, spesso evitati, con ulteriore peggioramento della condizione di atrofia e conseguente impatto negativo nella relazione di coppia. Nonostante ciò, solo una parte di queste pazienti ne aveva discusso col proprio medico.

Dunque, una diagnosi appropriata e precoce da parte del medico risulta essere fondamentale: la GSM, infatti, è una sindrome cronica che tende a peggiorare con il tempo, per cui un trattamento tempestivo può evitare il peggiorare della severità dei sintomi e allo stesso tempo permettere di mantenere il benessere bio-psico-sociale della paziente.

Un moderno approccio alle problematiche uro-ginecologiche prevede il coinvolgimento di più figure professionali specialistiche (ginecologi, urologi, colonproctologi, riabilitatori) ed un percorso diagnostico, clinico e strumentale che si basa su una prima valutazione ginecologica della paziente, per poi passare ad un ambito di competenza specialistica uroginecologica, per gli approfondimenti diagnostico-terapeutici necessari.

La valutazione ginecologica prevede:

1) Raccolta anamnestica della paziente, con particolare attenzione ai fattori di rischio e ai sintomi riferiti.

I sintomi maggiormente lamentati dalle pazienti riguardano la secchezza vaginale (75%), la dispareunia (38%), il prurito, le secrezioni e il bruciore vaginale (15%)[29].

È importante in questa fase discutere ed informare la paziente dell'esistenza di questa sindrome e delle sue implicazioni, sia per agevolare il processo diagnostico e sia per ottenere una maggiore compliance dalla stessa.

2) Esame obiettivo

Attraverso una accurata visita ginecologica devono essere valutati nello specifico: a livello **vulvare** la perdita del cuscinetto adiposo delle labbra, il restringimento e perdita del confine fra grandi e piccole labbra, accorciamento del prepuzio e perdita del pelo pubico.

Figura 3: Vulva atrofica (Lehman, R.A. 2009)

- a livello **vaginale** si può rilevare la presenza di atrofia ed insufficiente idratazione, arrossamento, perdita di elasticità, petecchie,

microfissurazioni, ulcerazioni ed infiammazione, accorciamento, fibrosi e obliterazione dei fornici, appiattimento delle rughe vaginali, restringimento dell'introito e, infine, evidenza di perdite atipiche.

Figura 4: vagina e cervice di paziente con VVA

Da uno studio italiano[23] è emerso che i segni maggiormente rilevati nelle pazienti affette da GSM sono la secchezza della mucosa (99%), l'assottigliamento delle pliche vaginali (92.1%), il pallore della mucosa (90.7%), la fragilità della mucosa (71.9%) e le petecchie (46.7%).

3) Richiesta di esami e/o di procedure diagnostiche

Al fine di confermare la diagnosi di GSM e indagare tutti gli aspetti riguardanti la patologia lo specialista può richiedere l'esecuzione di esami quali dosaggio ormonale, esame urine, tampone vaginale.

Inoltre si valuterà il pH vaginale, l'indice di maturazione vaginale e si chiederà alla paziente di fornire un diario minzionale per indagare eventuali sintomi correlati all'incontinenza.

L'**indice di maturazione vaginale** (Vaginal Maturation Index, VMI) è un esame che ci indica il grado di maturazione delle cellule dell'epitelio vaginale misurando la percentuale di cellule superficiali, intermedie e parabasali.

In seguito alla perdita di estrogeni, infatti, la percentuale dei vari tipi di cellule (Figura 5) viene alterata con una riduzione del numero delle cellule superficiali e intermedie ed aumento delle cellule parabasali.

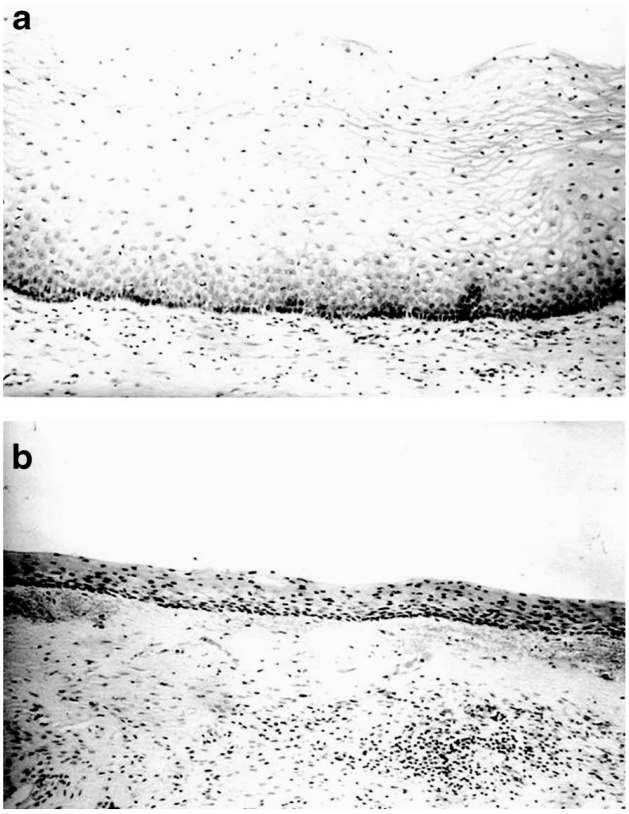


Figura 5: Preparato istologico di epitelio vaginale. A) Pre-menopausa; b) Post-menopausa. Climacteric. 2010 Dec;13(6):509-22

Tali esami consentono di distinguere la GSM da altre patologie che condividono sintomi simili come condizioni infiammatorie o allergiche (es. lichen sclerosus, dermatiti, vaginiti infiammatorie desquamative), infezioni, traumi, tumori, dolore pelvico cronico, vulvodinia[18].

Dopo la prima valutazione, per una migliore definizione delle eventuali problematiche uroginecologiche, si può richiedere un approfondimento diagnostico con indagini di 2° livello quali cistoscopia, esame urodinamico, RMN, defeco-grafia, perineomanometria.

3.6 Management

Attualmente esistono varie opzioni terapeutiche per la GSM la cui scelta varia in base alla storia clinica della paziente e alla severità dei sintomi.

Nello specifico, si possono distinguere 3 principali tipi di trattamento:

1. Trattamento non ormonale
2. Trattamento ormonale sistemico o locale
3. Trattamento laser

Secondo le ultime linee guida della NAMS del 2020[18]:

- Per le donne con sintomi **lievi** i trattamenti non ormonali a base di lubrificanti e creme vaginali idratanti associati ad una regolare attività sessuale sono indicati come terapia di prima linea. (Livello A)
- Per le donne con sintomi da **moderati** a **severi** o che **non traggono beneficio dalla terapia non ormonale** sono disponibili varie opzioni terapeutiche:
    - estrogeni topici a basse dosi;
    - DHEA intravaginale;
    - Ospemifene:
    - Terapia ormonale sistemica (se i sintomi della GSM sono associati a sintomi vasomotori). (Livello A)
- Il trattamento laser richiede ancora ulteriori studi di sicurezza ed efficacia a lungo termine prima che il suo uso di routine possa essere raccomandato. (Livello C)
- Per le donne con storia di carcinoma mammario o endometriale, il management dipende dalle preferenze della paziente, dalla severità dei sintomi e dalla comprensione dei potenziali rischi dopo consulenza con il proprio oncologo. (Livello C)

- Sebbene sul foglietto illustrativo degli estrogeni topici a basse dosi siano annotati i rischi associati alla terapia ormonale sistemica (incluse patologie cardiovascolari, stroke, trombosi venosa e carcinoma mammario ed endometriale), tali rischi sono altamente improbabili a causa del minimo assorbimento sistemico e dei risultati rassicuranti da sperimentazioni cliniche e studi osservazionali. (Livello B)
- L'uso del progestinico non è raccomandato con la somministrazione di estrogeni topici a basse dosi, sebbene sia giustificata una sorveglianza nelle donne ad alto rischio di cancro endometriale. (Livello B)

Al fine di valutare l'efficacia dei trattamenti possono essere utilizzati la valutazione del pH vaginale e l'esame citologico vaginale, ed inoltre, essendo la GSM una patologia cronica, il trattamento deve essere continuato finché i sintomi più fastidiosi sono presenti, associando un adeguato follow up.

A fronte di varie opzioni terapeutiche la GSM però risulta essere ancora una patologia sotto-trattata e curata male a causa non solo della difficoltà diagnostica ma anche della scarsa compliance alla terapia delle pazienti. Nel THE AGATA STUDY di F. Palma e collaboratori, su 274 donne che avevano ricevuto diagnosi di VVA/GSM solo il 9.8% non aveva ricevuto cure. Alle restanti, invece, erano state prescritte terapie ormonali sistemiche (9.2%), terapie ormonali locali (44.5%) e terapie non ormonali (36.5%), ma nonostante ciò al momento dello studio, ben 266 (97.1%) pazienti erano ancora affette dalla patologia. Si è quindi cercato di capire le motivazioni della scarsa efficacia dei trattamenti e si è visto come il 68,9% delle pazienti aveva abbandonato spontaneamente la terapia prescritta a causa dello scarso sollievo dai sintomi (46,6%), poca sicurezza e confusione sulla terapia (24,3%), difficoltà di applicazione (7,8%) e per la presenza di secrezioni (1,9%)[33].

Dunque, da quanto detto, si può concludere che:

- prima di procedere al trattamento risulta necessario informare le pazienti sulle varie opzioni terapeutiche e sui rischi e benefici a lungo termine delle stesse. D'altra parte, lo studio EU REVIVE, condotto anche in Italia in donne in post-menopausa, ha evidenziato come l'esposizione agli estrogeni preoccupi circa il 35% delle donne[32].
- il trattamento ideale della GSM dovrebbe mirare sia al sollievo dei sintomi e al miglioramento della qualità di vita della paziente e sia a tener conto delle preferenze terapeutiche delle stesse al fine di avere la massima aderenza.

3.7 Trattamento non ormonale

Il trattamento non ormonale prevede l'uso di:

- *lubrificanti* (a base di acqua, olio, silicone, acido ialuronico);
- *creme idratanti* (polimeri bioadesivi a base di policarbofil);
- *principi fitoterapici* (isoflavoni della soia e trifoglio rosso)*;*
- *compresse vaginali liquide di lidocaina;*
- *SERM*
- *altre terapie alternative* (Vitamina E, vitamina D orale, probiotici)

A questi si aggiungono le *modifiche nello stile di vita*, in particolare si incoraggia a mantenere un BMI<27, a smettere di fumare, ad eseguire ginnastica pelvica per migliorare il tono muscolare e la vascolarizzazione anche con l'ausilio di dilatatori vaginali, e, soprattutto, si incentiva a mantenere l'attività sessuale con il partner, in virtù del fatto che questa riduce i sintomi correlati all'atrofia vaginale migliorando l'elasticità, la lubrificazione ed aumentando la vascolarizzazione grazie allo stimolo meccanico[34].

I *lubrificanti e le creme idratanti* sono indicati per ridurre il discomfort e il dolore durante i rapporti nelle donne con secchezza vaginale di grado lieve e

moderato. Questi agiscono immediatamente idratando i tessuti e mimando l'azione delle secrezioni vaginali per ridurre l'attrito e quindi il dolore conseguente. Inoltre sembrerebbero riequilibrare i livelli del pH vaginale quando applicati regolarmente (almeno due volte a settimana).

Per le donne con dispareunia introitale, anche con storia di carcinoma della mammella, una opzione non ormonale è l'uso topico di *lidocaina* applicata sul vestibolo prima del rapporto intimo[35].

L'acido ialuronico è un polimero che si trova normalmente nel tessuto connettivo conosciuto per le sue proprietà igroscopiche, riepitelizzanti, viscoelastiche, antiossidanti, batteriostatiche e antinfiammatorie. La sua somministrazione si è dimostrata efficace nel migliorare la secchezza, la dispareunia e il trofismo dell'epitelio vaginale nelle donne affette da GSM, inoltre si è dimostrato una valida alternativa alla terapia a base di estrogeni coniugati avendo anche effetti sui sintomi dell'incontinenza[20]. Presente sul mercato sotto varie formulazioni (gel, crema, ovuli) rappresenta al momento una delle migliori alternative per le pazienti che non vogliono assumere ormoni, che hanno controindicazioni o che hanno avuto esperienze negative con le terapie ormonali.

La somministrazione di prodotti a base di *fitoestrogeni* ha mostrato avere effetti simili alla somministrazione di estrogeni migliorando il VMI senza effetti sullo spessore endometriale. La loro prescrizione tuttavia deve essere effettuata con cautela nelle donne con storia di carcinoma mammario[29].

Altre *terapie complementari a base di Vitamina E, Vitamina D e probiotici* sono state proposte come terapie alternative per la GSM, tuttavia gli studi sulla loro efficacia sono ancora scarsi[29].

I *modulatori selettivi dei recettori degli estrogeni (SERM)* fungono da agonista o antagonista dei recettori estrogenici a seconda dei tessuti sui quali agiscono. Tale proprietà conferisce a questa classe di farmaci il vantaggio di non

provocare gli effetti collaterali degli estrogeni, soprattutto a livello mammario e uterino, e quindi di poter essere utilizzati per il trattamento di varie patologie.

In particolare, l'*Ospemifene* è il SERM che si è dimostrato efficace per il trattamento della dispareunia moderata o severa associata a VVA ed approvato dalla FDA (Food and Drug Administration) nel 2013. Esso ha la proprietà di agire da agonista a livello dell'epitelio vaginale, del vestibolo vulvare e dell'osso, da antagonista a livello della mammella e di avere effetti neutri a livello endometriale.

Il uno studio randomizzato a doppio cieco durato 12 settimane si è visto come la somministrazione orale di 60 mg/die di ospemifene sia efficace nel miglioramento dei sintomi della VVA, del pH vaginale, e del VMI rispetto al placebo.[37]

Studi successivi hanno dimostrato la sicurezza e l'efficacia del farmaco a 52 settimane, con miglioramenti sostanziali nei sintomi della GSM e senza il riscontro di casi di tromboembolismo venoso, iperplasia endometriale o cancro[38]. Inoltre uno studio retrospettivo ha mostrato come l'ospemifene sia efficace anche nel ridurre il tasso di UTI dimostrandosi una valida alternativa anche nella prevenzione delle infezioni urinarie nelle donne in post-menopausa[39]. Nonostante la dimostrata attività antiestrogenica negli studi preclinici a livello del tessuto mammario, l'ospemifene non è attualmente indicato per il trattamento della GSM nelle donne con carcinoma mammario sospetto o accertato. A tale riguardo la EMA (European Medicines Agency) raccomanda il suo utilizzo solo dopo il completamento del trattamento oncologico, inclusa la terapia adiuvante.

La *combinazione di SERM con estrogeni coniugati (TSEC)* rappresenta una nuova linea terapeutica sviluppata per migliorare i sintomi menopausali e prevenire l'osteoporosi. In particolare, l'associazione di Bazedoxifene con estrogeni coniugati (ECE) si è dimostrata essere efficace nel trattamento

dell'atrofia vaginale rispetto al placebo e ai soli ECE, riducendo anche i sintomi vasomotori ed antagonizzando gli effetti sulla mammella ed endometrio tipici invece della terapia estrogenica.[40]

3.8 Trattamento laser

Una possibilità terapeutica di notevole interesse, specialmente nelle pazienti in cui non è indicato un trattamento estrogenico locale e che rifiutano le terapie a base di creme o lubrificanti a lungo termine, è rappresentata dall'utilizzo del laser.

L'uso di laser a particolari lunghezze d'onda e potenza può determinare un aumento controllato della temperatura delle pareti vaginali stimolando la vasodilatazione e la neoangiogenesi, l'aumento della produzione di matrice collagenica e di secrezioni e, infine, il trofismo tissutale ripristinando gli strati epiteliali superficiali e intermedi.

Ad oggi, sono disponibili due tipi di laser: il laser frazionato CO2 e il laser Erbium:YAG.

I dati riportati in letteratura riguardanti l'impiego del laser frazionato CO2 dimostrano che esso favorisce lo sviluppo di nuove papille di tessuto connettivo con relativa vascolarizzazione, riattivazione dei fibroblasti e produzione di nuovo collagene[41]. Clinicamente le pazienti trattate mostrano un miglioramento dei sintomi correlati alla GSM, dei disturbi relativi alla sfera sessuale e alla qualità di vita[42].

Il laser Erbium:YAG ha un effetto termico secondario più profondo e consente di rispristinare il trofismo dell'epitelio con 3/5 sedute.

Tra gli effetti collaterali sono stati segnalati il fastidio durante il trattamento, la formazione di cicatrici vaginali, dispareunia persistente e lacerazioni alla ripresa dell'attività sessuale.

Recentemente è stato sviluppato un nuovo approccio a radiofrequenze chiamato DQRF (Dynamic quadripolar radiofrequency) che sembrerebbe produrre miglioramenti dello spessore dell'epitelio vaginale, sulla rigenerazione delle fibre collagene e dell'elastina senza effetti collaterali sull'epidermide, nervi e vasi. Inoltre sembrerebbe migliorare sintomi quali la dispareunia, la disuria, la lassità e l'incontinenza[43].

In generale, il trattamento laser della GSM risulta essere promettente e vari studi hanno dimostrato la sua non inferiorità rispetto al trattamento con CE, dunque può essere valutata come una valida opzione terapeutica; tuttavia per il suo utilizzo routinario sono ancora necessari ulteriori studi di sicurezza ed efficacia a lungo termine.

3.9 Trattamento ormonale sistemico e locale

Nelle pazienti che non rispondono ai trattamenti non ormonali o nei casi di GSM di grado moderato o severo, il trattamento indicato è sicuramente di tipo ormonale.

Le terapie ormonali (HT) includono:

- *terapia estrogenica sistemica*
- *terapia estrogenica vaginale*
- *Testosterone vaginale*
- *DHEA intravaginale*

Da sempre, la terapia ormonale sostitutiva sistemica e l'utilizzo degli estrogeni topici hanno rappresentato un valido approccio per il trattamento dei sintomi climaterici locali. La somministrazione intravaginale di preparati ormonali ha il vantaggio di garantire un'azione locale a fronte di un minor assorbimento sistemico, inoltre non ha bisogno dell'associazione del progestinico (Livello B).[18]

La scelta del tipo di HT deve essere effettuata in base alle necessità e alle preferenze della paziente, previa analisi dei rischi e benefici.

La *terapia sistemica a base di estroprogestinici* è indicata nelle pazienti che presentano i sintomi vasomotori in associazione alla GSM. La somministrazione di estrogeni si è dimostrata efficace nel riequilibrare il pH vaginale, lo spessore e la rivascolarizzazione dell'epitelio incrementando la lubrificazione vaginale e riducendo il tasso di infezioni. La maggior parte delle pazienti hanno trovato sollievo dai sintomi correlati all'atrofia quali la secchezza, l'irritazione, il prurito, la dispareunia e l'urgenza urinaria. In alcuni casi però è stato visto che, nonostante la terapia, i sintomi relativi all'atrofia uro-genitale possono persistere per cui potrebbe essere indicata una terapia aggiuntiva a base di estrogeni topici. Per tale motivo, considerando anche i rischi della terapia sistemica ormonale, quali sanguinamento endometriale, tensione mammaria, stroke, tromboembolismo venoso e carcinoma mammario, essa non è raccomandata quando sono presenti solo i sintomi della GSM.[29]

La *terapia estrogenica vaginale* (ET) rappresenta il trattamento di prima linea della GSM in quanto più efficace nel trattamento dei sintomi vaginali e meno gravata da effetti collaterali. I vari prodotti disponibili (Tabella 2) possono essere somministrati in diversi tipi di formulazioni. L'assorbimento del farmaco dipende dalla dose, dal grado di atrofia e dal tempo di utilizzo.

Il trattamento a basse dosi di *estradiolo* risulta essere efficace quanto i dosaggi standard sia nel migliorare il pH vaginale e il VMI e sia nel dare sollievo dai

sintomi dell'atrofia e per tale motivo è raccomandato[44]. Una Cochrane del 2016[45] ha paragonato le varie formulazioni tra loro e versus placebo rilevando come i miglioramenti dei sintomi della secchezza e dispareunia siano paragonabili in tutte le formulazioni e tutte le formulazioni sono più efficaci rispetto al placebo. Dunque il tipo di formulazione è indifferente e può essere scelto in base alle preferenze della paziente.

Nome commerciale	**Principio attivo**	**Formulazione**	**Quantità di principio attivo/die**
Colpotrophine	Promestriene	Cpr vaginali Crema	10 mg 10 mg
Vagifem	Estradiolo	Cpr vaginali	0,025 mg
Estring	Estradiolo	Anello vaginale	0,0075 mg
Colpogyn	Estriolo	Ovuli Crema	1 mg 0,5 mg
Ortho-gynest	Estriolo	Ovuli a rilascio pr.	1 mg
Trofogin	Estriolo	Crema	0,5 mg
Blissel/ Gelistrol	Estriolo	Gel	0,05 mg
Atrocom	Estriolo	Ovuli	0,03 mg

Tabella 1: Prodotti a base di estrogeni disponibili in Italia

Altra valida opzione è la somministrazione di dosi ultra basse di *estriolo* (0.005%) che ha mostrato un miglioramento significativo sia del trofismo vaginale che della salute sessuale delle donne in post-menopausa[46].

Il *promestriene,* infine, è un estrogeno di origine sintetica che ha mostrato di essere un'opzione valida per il trattamento della VVA a fronte di un suo minimo assorbimento sistemico. Il suo utilizzo è stato studiato in vari studi randomizzati a doppio cieco anche in donne con storia di carcinoma della mammella evidenziando come, tra il gruppo trattato e il placebo, non vi fossero differenze nei livelli sierici di ormoni[47].

Gli effetti collaterali comuni della somministrazione locale di ET riguardano la comparsa di secrezioni, spotting, reazioni di ipersensibilità e prurito. Gli episodi di iperplasia endometriale o cancro associati a tale terapia sono rari, inoltre è stato visto che anche il rischio di tromboembolismo venoso non risulta essere significativo.

Le potenziali controindicazioni al trattamento riguardano la presenza di sanguinamenti uterini o vaginali di incerta natura e la somministrazione nelle pazienti con storia di neoplasia. Visto il loro minimo assorbimento sistemico tutti i foglietti illustrativi delle ET locali riportano le controindicazioni della terapia sistemica, ma tali rischi, come visto precedentemente, sono rari per cui è bene informare le pazienti sulla loro effettiva sicurezza per ottenere una buona compliance.

Tutti i trattamenti sono inoltre somministrati a cicli in maniera tale da avere effetti duraturi nel tempo e contemporaneamente non esporre continuamente la paziente al trattamento ormonale.

Recentemente la somministrazione vaginale di crema a base di *testosterone* è stata studiata per il trattamento dei sintomi correlati alla GSM come alternativa al trattamento estrogenico in donne con carcinoma della mammella. Tale terapia ha dimostrato di migliorare i sintomi della GSM e di incrementare il desiderio sessuale ma si è visto come in entrambi i tipi di trattamenti vi sia un minimo rialzo dei livelli di estradiolo per cui ulteriori studi sulla sua sicurezza ed efficacia devono ancora essere sostenuti[18].

La ricerca di alternative terapeutiche sempre più accettabili ha condotto all'osservazione che, mentre è ampiamente risaputo che la secrezione di estrogeni ovarici si riduce drasticamente in post-menopausa, le ghiandole surrenaliche e, in misura minore, le ovaie stesse, continuano a produrre un ormone di per sé inattivo, il DHEA, che tuttavia rappresenta l'unico precursore degli ormoni steroidei dopo

la menopausa. Ciò grazie ad un meccanismo di *intracrinologia* secondo il quale il DHEA sarebbe in grado di essere convertito in estrogeni e/o androgeni esclusivamente nelle cellule e nei tessuti che possiedono gli enzimi in grado di effettuare tale conversione[48].

Come già detto, a partire dal 2017 è stato approvato negli USA l'impiego del *DHEA intravaginale (Prasterone,* nome commerciale *Intrarosa*) per il trattamento della dispareunia di grado moderato o severo associata a VVA menopausale, reso disponibile anche in Italia da maggio 2019.

Studi randomizzati eseguiti da Labrie *et al*.[9] hanno dimostrato come la somministrazione intravaginale giornaliera di 6.5 mg (0.5%) di Prasterone in forma di ovuli sia efficace nel migliorare i sintomi della dispareunia, della secchezza vaginale, nel diminuire il pH e il VMI e ad incrementare la risposta sessuale (desiderio, eccitazione e orgasmo). La trasformazione intracellulare di DHEA in estrogeni è verosimilmente responsabile della maturazione delle cellule para-basali, che vengono trasformate in cellule intermedie e quindi in cellule superficiali. In più, è stato dimostrato che il DHEA induce la secrezione di muco da parte dello strato superficiale dell'epitelio, aumenta la densità delle fibre collagene della lamina propria e stimola lo strato muscolare. Tali osservazioni fanno sì che il DHEA possa trovare un adeguato impiego anche nel più ampio corredo sintomatologico della sindrome genito-urinaria. Al contrario della terapia a base di soli estrogeni, essa ha il vantaggio di non agire solo sugli strati superficiali della mucosa, ma anche sulla lamina propria e sullo strato muscolare, nonchè di migliorare la sensibilità delle terminazioni nervose proprio grazie all'azione coniugata di estrogeni ed androgeni.

Tali osservazioni hanno portato alla proposta di utilizzare il DHEA come nuova terapia sostitutiva per il trattamento dei sintomi della menopausa ed in

particolare dell'atrofia vulvo-vaginale. Rispetto alla tradizionale terapia sostitutiva, il DHEA presenta diversi vantaggi:

- non è un ormone attivo ma un precursore ormonale, che viene attivato solo nei tessuti periferici che possiedono il corredo enzimatico necessario alla sintesi di estrogeni ed androgeni, per cui non si associa a tutti gli effetti collaterali e alle potenziali controindicazioni che invece caratterizzano le terapie a base di estroprogestinici;
- è precursore sia degli estrogeni che degli androgeni, per cui permette di associare entrambe le azioni nei tessuti bersaglio, al contrario di quanto avviene invece con una terapia a base di soli estrogeni;
- non ha influenza sull'atrofia fisiologica dell'endometrio tipica della menopausa, in quanto tale tessuto non possiede il corredo enzimatico, in particolare l'aromatasi, necessario a trasformare il DHEA in estrogeni. Di conseguenza non si associa al rischio di sviluppo di iperplasia o cancro endometriale.

Partendo dall'osservazione che la terapia estrogenica topica risulti essere efficace nel miglioramento di una parte dei sintomi correlati all'incontinenza da urgenza, e presupponendo che, essendo presenti a livello del tessuto urogenitale sia recettori per estrogeni che per androgeni, e che l'integrazione della quota androgenica potrebbe determinare un potenziamento delle strutture muscolari e collageniche, ci è parso interessante chiederci se un trattamento a base di DHEA intravaginale potesse essere egualmente efficace, se non superiore agli estrogeni, nel migliorare i sintomi da incontinenza da urgenza correlati alla GSM.

Le alternative terapeutiche in grado di determinare una neocollagenesi, come il trattamento laser dell'atrofia vulvo-vaginale, hanno già ampiamente documentato un effetto positivo sull'incontinenza urinaria da sforzo lieve,

ripristinando il meccanismo di sostegno ad amaca sottouretrale, mediante rafforzamento delle strutture di sostegno pelvi-perineali. Buoni risultati sono stati altresì ottenuti sulla sintomatologia da urgenza urinaria e sulla urge incontinence associata, tipiche della sindrome della vescica iperattiva. Ciò potrebbe rappresentare il razionale per l'utilizzo del DHEA intravaginale nel trattamento di tali affezioni uroginecologiche, in virtù del suo effetto sugli strati più profondi dell'epitelio vaginale rispetto alla sola integrazione estrogenica, che porterebbe ad un potenziamento dell'azione di sostegno delle strutture pelvi-perineali andando a migliorare anche i quadri di incontinenza urinaria lieve.

Proprio prendendo spunto da questa ultima considerazione, ed essendo il Prasterone entrato solo di recente nel mercato e quindi meritevole di ulteriori studi sulla sua reale efficacia, il presente lavoro di ricerca si pone l'obiettivo di valutare l'efficacia della somministrazione di DHEA intravaginale nel trattamento dei sintomi della GSM correlati all'incontinenza da urgenza di grado lieve e moderata.

CAPITOLO 4. ***Effetti della somministrazione intravaginale di DHEA (prasterone) sui sintomi della incontinenza urinaria in donne affette da atrofia vulvo-vaginale.***

4.1 Disegno e scopo dello studio

L'obiettivo del presente progetto di ricerca è stato quello di valutare gli effetti della somministrazione intravaginale di DHEA rispetto alla somministrazione topica di acido ialuronico, sui sintomi dell'incontinenza urinaria da urgenza lieve e moderata, in donne affette da atrofia vulvo-vaginale.

Si è proceduto ad uno studio di tipo osservazionale.

Gli endpoint previsti sono stati:

- Endpoint primario: differenza nella proporzione di pazienti "migliorate" (risposta 1, 2, 3 del PGI-I) nei due gruppi di trattamento presi in esame
- Endpoints secondari (vs. basale e controllo):
    - n. di episodi di urgenza minzionale
    - n. di episodi di incontinenza da urgenza
    - n. minzioni quotidiane
    - valutare la differenza nell'effetto dei due trattamenti sulla qualità di vita mediante somministrazione del questionario IQol (Incontinence-Quality Of Life Questionnaire)
    - valutare la differenza fra i due trattamenti per aderenza alla terapia

4.2 Reclutamento

Il reclutamento è stato effettuato fra le donne afferenti agli ambulatori del reparto di Ginecologia e Ostetricia dell'AOU Federico II che, per la presenza di atrofia vaginale, avevano ricevuto la prescrizione di ovulo vaginale a base di DHEA o di ovulo vaginale a base di acido ialuronico. Entrambe le terapie sono indicate per il trattamento di questa condizione.

La prescrizione del trattamento è stata effettuata al solo scopo di trattare l'atrofia vulvo-vaginale, prima della verifica dei criteri di inclusione e di esclusione, da medici anche non partecipanti allo studio.

Tra le pazienti che hanno ricevuto il trattamento topico sono state inserite nello studio osservazionale coloro che hanno riferito sintomi da vescica iperattiva e/o incontinenza urinaria da urgenza lieve e moderata.

<u>Procedure di arruolamento e inizio studio</u>

- raccolta dell'anamnesi
- somministrazione di 3 questionari (OAB-Q, ICIQ-SF, IQoL) per indagare i sintomi dell'incontinenza urinaria
- conferma del rispetto dei criteri di inclusione ed esclusione

Si è proceduto, inoltre, ad ottenere l'adesione volontaria della paziente allo studio tramite la firma di un apposito consenso informato prima di qualsiasi procedura correlata.

I criteri di inclusione allo studio sono stati:

- buona salute generale
- età compresa fra i 45 e i 75 anni
- prelievo colpocitologico negativo per lesioni neoplastiche o intrapeiteliali

- menopausa naturale o chirurgica da almeno 1 anno
- sintomi e segni di atrofia vulvovaginale
- diagnosi clinica di incontinenza urinaria da urgenza (OABS > 8)
- incontinenza di gravità lieve o moderata (ICIQ-SF da 1 a 12)
- assenza di controindicazioni alla terapia locale con DHEA come da foglietto illustrativo
- perfetta comprensione della lingua italiana

I criteri di esclusione dallo studio sono stati:

- mancato consenso informato
- segni e/o sintomi di incontinenza urinaria severa
- assenza di segni e/o sintomi di incontinenza urinaria

4.3 Procedure di valutazione di efficacia

Per la valutazione dell'incontinenza nelle pazienti sono stati utilizzati questionari approvati dalla International Consultation On Incontinence (ICI) e validati per la lingua italiana[49,50].

All'arruolamento sono stati somministrati i seguenti questionari:

- Overactive Bladder Screener (OAB)
- International Consultation on Incontinence Questionnaire Short Form (ICIQ-SF)
- International Quality Of Life Questionnaire (IQoL)

Al termine delle 12 settimane di trattamento, invece, sono stati somministrati i questionari:

- International Consultation on Incontinence Questionnaire Short Form (ICIQ-SF)
- International Quality of Life Questionnaire (IQoL)

- Patient Global Impression of Improvement (PGI-I)

OAB screener

L'OAB screener è uno strumento validato[42] e affidabile che consente di valutare la presenza dei sintomi dell'incontinenza da urgenza considerando come diagnostico uno score >8.

Nelle ultime 4 settimane, quanto le ha dato fastidio…	**Per niente**	**Poco**	**Moderatamente**	**Abbastanza**	**Molto**	**Moltissimo**
1. Urinare spesso durante le ore della giornata?	1	2	3	4	5	6
2. Avere uno sgradevole bisogno urgente di urinare?	1	2	3	4	5	6
3.Avere un'improvvisa urgenza di urinare con poco o nessun preavviso?	1	2	3	4	5	6
4. Avere piccole perdite involontarie di urina?	1	2	3	4	5	6
5. Urinare di notte?	1	2	3	4	5	6
6. Svegliarsi di notte per il fatto di dover urinare?	1	2	3	4	5	6
7. Avere un incontenibile bisogno di urinare?	1	2	3	4	5	6
8. Avere perdite di urina associate ad una forte voglia di urinare?	1	2	3	4	5	6

SE score > 8 diagnosi di incontinenza da urgenza

ICIQ–SF (INTERNATIONAL CONSULTATION ON INCONTINENCE QUESTIONNAIRE SHORT FORM)

Attraverso il questionario ICIQ–SF vengono indagate la frequenza e l'entità delle perdite di urina, il grado di interferenza con la vita quotidiana nonchè le circostanze nelle quali esse si verificavano (ad esempio durante l'attività fisica, durante il sonno). Il punteggio totale ottenuto consente di classificare l'incontinenza in:

- Lieve: se punteggio da 1 a 5
- Moderata: se punteggio da 6 a 12
- Grave: se punteggio da 13 a 18
- Molto grave: se punteggio da 19 a 21

Tale questionario è stato poi riproposto al termine delle 12 settimane di trattamento per verificare i miglioramenti in termini di frequenza e quantità delle perdite di urina.

1. **Con quale frequenza le accade di perdere urina?**

- Mai 0
- una volta alla settimana o meno 1
- due o tre volte alla settimana 2
- circa una volta al giorno 3
- più volte al giorno 4
- continuamente 5

2. **Qual è l'entità delle sue perdite di urina? Secondo la sua personale opinione quanta urina perde comunemente (sia quando indossa una protezione che quando non la indossa)?**

- Non perdo urina 0
- Perdo piccole quantità di urina 2
- Perdo modeste quantità di urina 4
- Perdo abbondanti quantità di urina 6

3. **Nel complesso, in che misura la perdita di urina interferiscono con la sua vita quotidiana? [0 = per niente - 10 = moltissimo]**

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

4. **In quali circostanze perde urina?**

- Prima di riuscire ad arrivare in bagno
- Quando tossisco o starnutisco
- Senza ragioni particolari
- Durante il sonno
- Sempre
- Durante la attività fisica
- Una volta rivestita dopo avere urinato

IQoL (International quality of life questionnaire)

L'IQoL consta di 22 quesiti che mirano a valutare l'impatto della patologia sulla qualità di vita della paziente. Il punteggio totale del questionario va da 22 a 110. Un punteggio basso all'IQoL è correlato ad una forte influenza dell'incontinenza sulla qualità di vita, al contrario un punteggio alto ci indica che essa non la condiziona significativamente.

1. **Ho paura di non poter arrivare in tempo al gabinetto**.
    1. moltissimo
    2. molto
    3. un po'
    4. molto poco
    5. per nulla
2. **Ho paura di tossire o di starnutire a causa dei miei problemi urinari o dell'incontinenza**.
    1. moltissimo
    2. molto
    3. un po'
    4. molto poco
    5. per nulla

3. **Devo stare attento(a) ad alzarmi dopo essere stato(a) seduto(a), a causa dei miei problemi urinari o dell'incontinenza.**
   1. moltissimo
   2. molto
   3. un po'
   4. molto poco
   5. per nulla

4. **Mi preoccupo di sapere dov'è il gabinetto in luoghi in cui vado per la prima volta.**
   1. moltissimo
   2. molto
   3. un po'
   4. molto poco
   5. per nulla

5. **Mi sento depresso(a) a causa dei miei problemi urinari o dell'incontinenza.**
   1. moltissimo
   2. molto
   3. un po'
   4. molto poco
   5. per nulla

6. **Mi sento poco libero(a) di stare fuori casa per molto tempo a causa dei miei problemi urinari o di incontinenza.**
   1. moltissimo
   2. molto
   3. un po'
   4. molto poco
   5. per nulla

7. **Mi sento scoraggiato(a) perché i miei problemi urinari o di incontinenza mi impediscono di fare ciò che voglio.**
   1. moltissimo
   2. molto
   3. un po'
   4. molto poco
   5. per nulla

8. **Ho paura che gli altri sentano odore di urina su di me.**
   1. moltissimo

2. molto
3. un po’
4. molto poco
5. per nulla

9. I miei problemi urinari o di incontinenza sono per me un pensiero fisso.

1. moltissimo
2. molto
3. un po’
4. molto poco
5. per nulla

10. Per me è importante poter andare spesso al gabinetto.

1. moltissimo
2. molto
3. un po’
4. molto poco
5. per nulla

11. A causa dei miei problemi urinari o di incontinenza devo prevedere tutto nei minimi particolari.

1. moltissimo
2. molto
3. un po’
4. molto poco
5. per nulla

12. Ho paura che i miei problemi urinari o di incontinenza peggioreranno invecchiando.

1. moltissimo
2. molto
3. un po’
4. molto poco
5. per nulla

13. Mi è difficile dormire tranquillamente per una notte intera a causa dei miei problemi urinari o di incontinenza.

1. moltissimo
2. molto
3. un po’
4. molto poco
5. per nulla

14. Ho paura di trovarmi in situazioni imbarazzanti o umilianti a causa dei miei problemi urinari o di incontinenza.

1. moltissimo
2. molto
3. un po’
4. molto poco
5. per nulla

15. A causa dei miei problemi urinari o di incontinenza ho l'impressione di non essere una persona in buona salute.

1. moltissimo
2. molto
3. un po’
4. molto poco
5. per nulla

16. Mi sento indifeso(a) di fronte ai miei problemi urinari o di incontinenza.

1. moltissimo
2. molto
3. un po’
4. molto poco
5. per nulla

17. Gusto meno i piaceri della vita a causa dei miei problemi urinari o di incontinenza.

1. moltissimo
2. molto
3. un po’
4. molto poco
5. per nulla

18. Ho paura di bagnarmi.

1. moltissimo
2. molto
3. un po’
4. molto poco
5. per nulla

19. Mi sento come se non avessi nessun controllo della vescica (dell'urinare).

1. moltissimo

2. molto
3. un po’
4. molto poco
5. per nulla

20. Devo stare attento(a) a quanto o a cosa bevo, a causa dei miei problemi urinari o di incontinenza.

1. moltissimo
2. molto
3. un po’
4. molto poco
5. per nulla

21. I miei problemi urinari o di incontinenza mi impediscono di mettermi i vestiti che voglio.

1. moltissimo
2. molto
3. un po’
4. molto poco
5. per nulla

22. Ho paura di avere rapporti sessuali a causa dei miei problemi urinari o incontinenza.

1. moltissimo
2. molto
3. un po’
4. molto poco
5. per nulla

PGI-I (PATIENT GLOBAL IMPRESSION OF IMPROVEMENT)

Il PGI-I indaga sul grado di miglioramento percepito dalla paziente in seguito ad un determinato trattamento.

La paziente è invitata a barrare la casella che descrive in maniera più adeguata il suo grado di soddisfazione post terapia

1. Estremamente migliorata
2. Molto migliorata
3. Lievemente migliorata
4. Nessun cambiamento

5. Lievemente peggiorata
6. Molto peggiorata
7. Estremamente peggiorata

4.4 Trattamenti

Trattandosi di studio osservazionale il trattamento è stato prescritto precedentemente all'arruolamento con lo scopo di curare l'atrofia vulvo-vaginale.

Gruppo di studio: ovulo vaginale contenente 6,5 mg di DHEA alla dose di un ovulo in vagina tutte le sere per 12 settimane;

Gruppo di controllo: ovulo vaginale contenente acido ialuronico 5 mg alla dose di un ovulo in vagina tutte le sere per 12 settimane.

4.5 Analisi statistica

Considerando come clinicamente significativa una differenza del 50% tra le pazienti trattate con DHEA e quelle trattate con acido ialuronico, per quanto riguarda l'outcome primario (percentuale di pazienti con punteggio 1,2,3 al PGI-I), si è calcolato che per ottenere una potenza dell'80% e per identificare una differenza significativa tra i due gruppi sarebbe stato necessario arruolare 58 pazienti per gruppo con un errore di tipo uno a due code del 5%. Ipotizzando un tasso di drop-out del 20%, è stato deciso di arruolare 70 pazienti per gruppo.

L'analisi statistica è stata eseguita utilizzando il programma "Statistical Package for the Social Sciences" (SPSS). La distribuzione dei dati è stata valutata con il test di Shapiro–Wilk's test. Le differenze tra i due gruppi per quanto riguarda l'outcome principale (percentuale di pazienti con punteggio 1,2,3 al PGI-I) è stato valutato con il $\chi 2$ test. Sono stati utilizzati invece il test t-Student per campioni non appaiati per analizzare le differenze dei dati parametrici ed il test di

Mann–Whitney U test per valutare le differenze dei dati non parametrici. La significatività è stata settata per un valore <0.05.

4.6 Riservatezza e protezione dei dati

Tutti i dati riguardanti lo studio sono stati coperti dalla massima riservatezza; solo le autorità sanitarie locali, il Comitato Etico e gli assistenti alla ricerca hanno avuto accesso alle informazioni raccolte durante lo studio.

4.7 Risultati

Dal mese di Settembre 2019 sono state reclutate 45 pazienti con sintomi di VVA e IUU.

A causa dello scoppio della pandemia di COVID-19, nel mese di Marzo 2020 le attività ambulatoriali sono state fortemente ridotte e le operazioni di reclutamento sono state sospese; le pazienti già reclutate sono state seguite telefonicamente.

Di queste 45 pazienti:

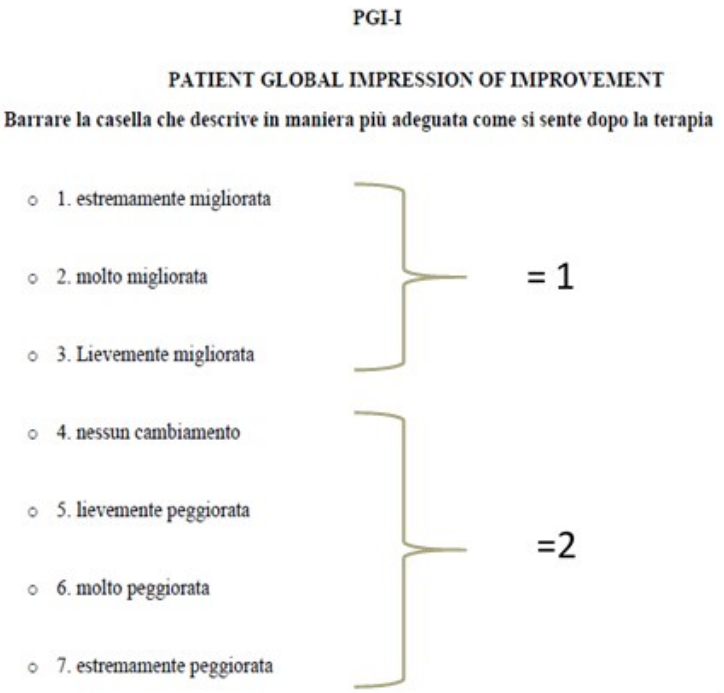
- 22 pazienti hanno ricevuto un trattamento con ovuli vaginali a base di acido ialuronico (Gruppo 1);
- 23 pazienti hanno ricevuto un trattamento con ovuli vaginali a base di DHEA (Gruppo 2).

Entrambi i gruppi sono stati confrontati per età media e per età media di insorgenza dalla menopausa non riscontrando differenze significative al Test t per campioni indipendenti.

Tutte le pazienti avevano presentato un punteggio superiore a 8 all'OAB screener, confermando di essere affette da IUU, senza differenze significative nel punteggio medio totale tra i due gruppi. Al termine dei tre mesi di trattamento

sono stati somministrati i 3 questionari finali (ICIQ-SF, IQoL e PGI-I) e sono emersi i seguenti risultati:

1. Rispetto alle 45 iniziali, **il trattamento è stato portato a termine da 40 pazienti**. Nello specifico le pazienti che hanno terminato il trattamento del Gruppo 1 (acido ialuronico) sono state 19, mentre quelle del Gruppo 2 (DHEA) sono state 21. I motivi dell'abbandono della terapia sono stati il non sollievo dalla terapia e il costo dei farmaci.
2. Per quanto riguarda l'outcome primario dello studio, ovvero la **differenza nella proporzione di pazienti migliorate al PGI-I nei due gruppi in esame**, è stato eseguito il Test del $\chi 2$ accorpando le risposte del PGI-I ed assegnando il valore **1** alle risposte 1(estremamente migliorata), 2 (molto migliorata) e 3 (lievemente migliorata) ed il valore **2** alle risposte 4 (nessun cambiamento), 5 (lievemente peggiorata), 6 (molto peggiorata) e 7 (estremamente peggiorata). Da tale test è emerso che l'uso di Prasterone si associa ad un significativo miglioramento dei sintomi**.**


PGI-I

PATIENT GLOBAL IMPRESSION OF IMPROVEMENT

Barrare la casella che descrive in maniera più adeguata come si sente dopo la terapia

- 1. estremamente migliorata
- 2. molto migliorata
- 3. Lievemente migliorata

= 1

- 4. nessun cambiamento
- 5. lievemente peggiorata
- 6. molto peggiorata
- 7. estremamente peggiorata

=2

	ACCORPAMENTO VALUTAZIONE		TOTALE
	1	2	
GRUPPO 1	3	16	19
GRUPPO 2	20	1	21
TOTALE	23	17	40

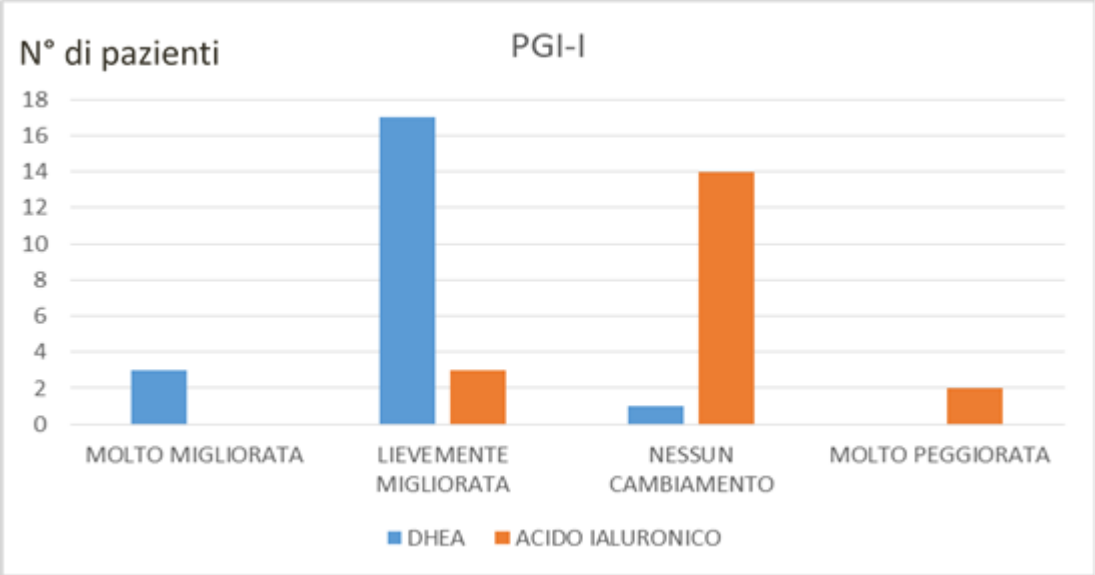


Figura 6: Risultati PGI-I

Nello specifico, come si può vedere dal grafico in Figura 6:

- tra le pazienti del Gruppo 1 trattate con Acido ialuronico 14/19 non hanno avuto miglioramenti, 2/19 sono molto peggiorate e solo 3/19 sono risultate lievemente migliorate;
- tra le pazienti del Gruppo 2 trattate con Prasterone 17/21 sono risultate lievemente migliorate, 3/21 molto migliorate e solo 1/21 non ha avuto cambiamenti.

3. Per quanto riguarda la **differenza nelle distribuzioni** dei casi al tempo 0 e dopo la terapia tra le categorie di farmaci, nei quesiti 1 (frequenza delle

perdite di urina), 2 (entità delle perdite) e 3 (interferenza delle perdite con la vita quotidiana) e nel punteggio totale (livello di severità dell'incontinenza) dell'**ICIQ-SF**, calcolate con il Test U di Mann-Whitney per campioni indipendenti, **non si è osservata alcuna differenza significativa**.

4. Per quanto riguarda la differenza nelle distribuzioni ai quesiti dell'IQoL tra le categorie di farmaci calcolate con il Test U di Mann-Whitney per campioni indipendenti la distribuzione del punteggio totale del test al tempo 0 e dopo la terapia tra i due trattamenti non è risultata significativa.
5. Per quanto riguarda la differenza nei punteggi mediani ai quesiti dell'ICIQ-SF nei singoli gruppi di trattamento al tempo 0 e dopo la terapia calcolata con il Test del segno a campioni correlati è risultato che:
    - Per il Quesito 1 e per il Quesito 2 non vi sono differenze significative tra i punteggi ottenuti al tempo 0 e dopo la terapia né nel Gruppo 1 (Acido ialuronico) e né nel Gruppo 2 (DHEA);
    - Per il Quesito 3 non vi sono differenze significative tra i punteggi ottenuti al tempo 0 e dopo la terapia nel Gruppo 1 mentre **c'è una differenza significativa ($p<0.05$) nei punteggi ottenuti al tempo 0 e dopo la terapia nel Gruppo 2.**
    - Per il punteggio totale al test, espressione del livello di severità dell'incontinenza, si è riscontrata una differenza significativa ($p<0,05$) tra i punteggi ottenuti al tempo 0 e dopo la terapia nel Gruppo 2 mentre è risultata non significativa nel Gruppo 1.
6. Infine, la differenza delle mediane del punteggio totale all'IQol nei singoli gruppi al tempo 0 e dopo la terapia, calcolata con il Test del segno a campioni correlati, è risultata essere non significativa.

4.8 *Discussione*

La terapia locale con somministrazione giornaliera di un ovulo vaginale a base di Prasterone, rispetto alla terapia a base di acido ialuronico, è risultata essere più efficace nel controllare i sintomi relativi all'incontinenza urinaria da urgenza lieve in donne affette da sindrome genitourinaria, ottenendo punteggi superiori al PGI-I.

Tramite il PGI-I (Patient Global Impression of Improvement) abbiamo infatti valutato se, alla fine delle 12 settimane di trattamento, la paziente si sentisse:

1. Estremamente migliorata
2. Molto migliorata
3. Lievemente migliorata
4. Nessun cambiamento
5. Lievemente peggiorata
6. Molto peggiorata
7. Estremamente peggiorata

La quasi totalità delle pazienti trattate con Prasterone si è mostrata soddisfatta della terapia rilevando un lieve miglioramento nei sintomi dell'incontinenza, mentre tra le pazienti trattate con acido ialuronico solo 3/19 hanno percepito un lieve miglioramento. Tali risultati ci indicano addirittura una differenza nella proporzione di pazienti "migliorate" (risposta 1, 2, 3 del PGI-I) nei due gruppi di trattamento superiore dell'80%, ovvero ben maggiore rispetto al 50% prefissato.

Una differenza significativa ($p<0,05$) si è vista soprattutto nei punteggi mediani del Quesito 3 dell'ICIQ-SF prima e dopo trattamento. L'ICIQ-SF è un test validato dall'ICI (International Consultation On Incontinence) che permette di valutare il grado dell'incontinenza in base alla frequenza delle perdite di urina,

all'entità e al grado di interferenza con le attività della vita quotidiana. Nello specifico tramite il quesito 3 abbiamo chiesto alla paziente di esprimere una stima di quanto le perdite di urina interferissero con le attività quotidiane esprimendo un valore in una scala da 0 a 10, dove 0=per niente e 10=moltissimo. Di fatto, le pazienti, trattate con DHEA, hanno riscontrato un impatto favorevole sulla loro qualità della vita specie nell'esecuzione delle mansioni quotidiane, altre hanno invece riferito una minore comparsa di nicturia.

Per quanto riguarda gli endpoint secondari, non sono state rilevate differenze significative tra i due gruppi nel numero di episodi di urgenza e IUU, né nel numero di minzioni quotidiane. Anche i punteggi totali ottenuti all'IQoL, ovvero il questionario che indaga sull'impatto che l'incontinenza urinaria esercita sulla qualità di vita, sulle abitudini e sulla sfera emotiva, al tempo 0 e dopo trattamento non hanno mostrato differenze significative sia all'interno dello stesso gruppo che nel confronto dei due gruppi di trattamento.

D'altra parte, le pazienti in oggetto presentavano sintomatologia moderata, di conseguenza i miglioramenti inerenti alla qualità di vita difficilmente potevano raggiungere la significatività statistica.

Le pazienti trattate con acido ialuronico non hanno tratto giovamento dalla terapia per quanto riguarda i sintomi dell'incontinenza urinaria da urgenza. I punteggi ai test e gli stessi racconti delle pazienti suggeriscono che il trattamento con acido ialuronico è essenzialmente neutrale nei confronti delle manifestazioni dell'IUU.

Entrambe le terapie, infine, sono state ben tollerate dalle pazienti e nel complesso vi è stata una buona aderenza alla terapia con solo cinque casi di drop-out.

L’individuazione di un unico farmaco ideale che possa controllare differenti sintomi inclusi nella definizione di *sindrome genitourinaria* e comprendenti sia quelli strettamente legati all’AVV, sia quelli da attribuire al basso tratto urinario, rappresenta una sfida ambiziosa che nasconde in sé la consapevolezza di considerare tale condizione clinica nelle sue differenti sfaccettature e per le diverse conseguenze che essa determina a più livelli.

Più in generale, il corredo sintomatologico determinato dalla sindrome genitourinaria, in misura più percepita rispetto ad altre condizioni croniche, non solo comporta delle conseguenze sul piano clinico, ma inficia in maniera significativa la qualità della vita della paziente che ne risulta affetta, limitando la sua libertà di espressione relazionale e sociale. Gli sforzi della comunità scientifica, pertanto, dovrebbero essere finalizzati, in ultima analisi, proprio al controllo delle conseguenze che la sindrome genitourinaria esercita sulla salute pubblica e sui costi ad essa correlati. La giusta pretesa da parte dell’universo femminile di prolungare la propria presenza in ambito socio-lavorativo e la propria femminilità in ambito relazionale, ha fatto sì che, già a partire dagli scorsi decenni, le donne porgessero maggiore attenzione verso la menopausa e la sintomatologia ad essa correlata. In ambiti culturali tendenzialmente giovanilistici e volti a negare l’invecchiamento, la sperimentazione di una sintomatologia molesta, in grado di alterare la rete di relazioni sociali ed affettive ha fatto sì sì che le donne manifestassero sempre di più l’esigenza di risoluzione o miglioramento dei disturbi legati alla menopausa, così da conservare la loro affermazione socio-relazionale.

Le alternative terapeutiche finora utilizzate per il controllo della sintomatologia climaterica si sono scontrate di fatto con la necessità, il più delle volte, di fare ricorso contemporaneamente ad una maggiore varietà di molecole per poter controllare i differenti sintomi genitali ed urinari.

L’individuazione di un prodotto topico come il DHEA intravaginale, che presenta un già confermato margine di sicurezza e di efficacia nel trattamento dell’AVV e che possa controllare anche i sintomi dell’incontinenza urinaria da urgenza lieve, potrebbe rappresentare un passo importante verso una maggiore compliance da parte delle pazienti, spesso scoraggiate dalla necessità di multipli trattamenti e dai costi ad essi legati.

Il profilo di sicurezza del prodotto è stato testato a vari livelli.

Attraverso studi che hanno utilizzato la spettrometria di massa tandem abbinata alla cromatografia liquida (LC-MS/MS), è stato osservato come i livelli sierici di ormoni in seguito alla somministrazione intravaginale di DHEA rimangano invariati rispetto ai range menopausali, compresi quelli dei suoi metaboliti, e la sua somministrazione non ha nessun effetto sull’endometrio anche dopo 52 settimane di trattamento[51,52].

Gli unici effetti avversi segnalati sono stati il discomfort delle pazienti rispetto all’inserimento del farmaco in vagina e la perdita di secrezioni, quest’ultime dovute alla componente oleosa del farmaco stesso.

L’azione topica del DHEA intravaginale trova il suo razionale nel sofisticato meccanismo dell’*intracrinologia.*

Il termine *intracrinologia* è stato coniato per la prima volta nel 1988 dal Professor Fernand Labrie per descrivere, nei modelli di ratti orchiectomizzati, la trasformazione dai precursori inattivi surrenalici, quali DHEA e androstenedione, in androgeni, testosterone e DHT. Questi osservò infatti come in modelli animali le cellule della prostata normale e tumorale siano in grado di sintetizzare androgeni attivi al loro interno grazie alla presenza di enzimi capaci sia di sintetizzarli che di degradarli, una volta espletata la loro funzione.

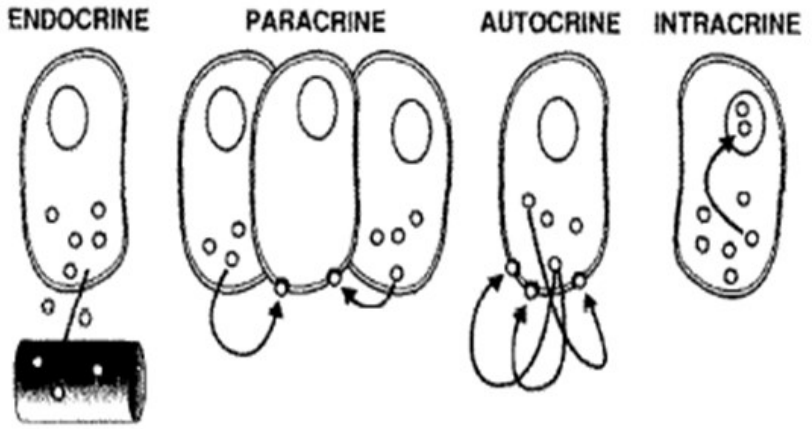


Figura 7: Rappresentazione schematica della secrezione endocrina, paracrina, autocrina ed intracrina. (Labrie et al.1991)

Secondo tale sistema, la sintesi di estrogeni ed androgeni avverrebbe nelle stesse cellule in cui esercitano la loro azione, senza rilascio degli stessi nello spazio extracellulare. Tale sistema si affianca alle classiche modalità di secrezione endocrina, paracrina e autocrina classicamente descritte per spiegare i meccanismi di rilascio e azione ormonale (Figura 7).

Attraverso i meccanismi dell'intracrinologia, la sintesi periferica di ormoni permetterebbe un'azione esclusivamente locale senza il rilascio in circolo di metaboliti attivi.

Il corredo enzimatico necessario alla sintesi intracrina ormonale è presente in vari tessuti nell'uomo quali prostata, mammella, vagina, tessuto adiposo ed epidermide[53].

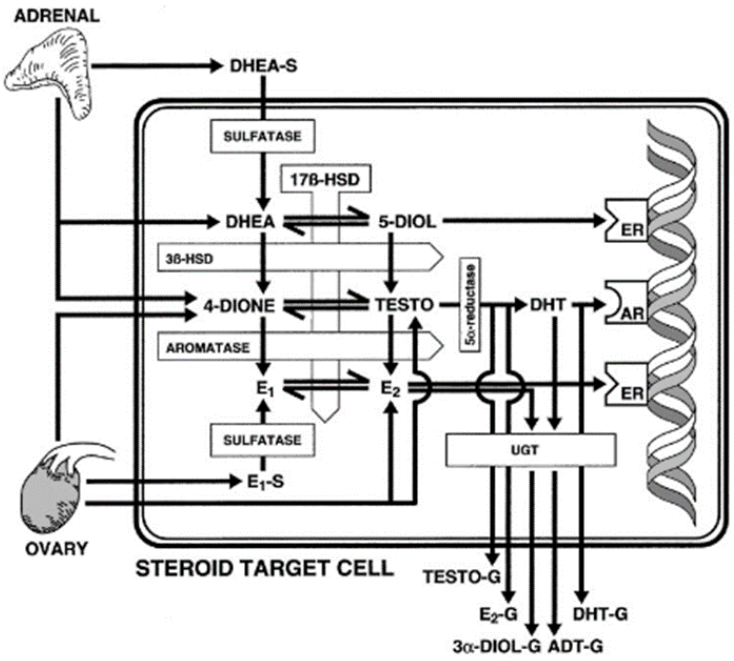


Figura 8: Rappresentazione schematica della secrezione di DHEA, DHEA-S e androstenedione (4-dione) dai surreni e dell'estradiolo, testosterone e 4-dione dall'ovaio e del loro metabolismo intracellulare nei tessuti periferici. (Labrie et al. Endocrine reviews,2003)

In particolare, gli enzimi più importanti per la sintesi di estrogeni ed androgeni a livello dei tessuti periferici sono rappresentati dalla 3β-idrossisteroido-deidrogenasi (3β-HSD), dalla 17β-idrossisteroido-deidrogenasi (17β-HSD), dall'aromatasi e dalla 5α-reduttasi.

Per la degradazione degli stessi, all'interno delle cellule sono presenti gli enzimi appartenenti alla famiglia dell'uridina difosfato(UDP)-glucuronosiltransferasi (UGT), responsabili della glucuronazione del DHT e dell'estradiolo nei loro metaboliti inattivi[54]. Ne consegue che alla fine del processo biosintetico vengano rilasciati in circolo solo metaboliti inattivi idrosolubili mentre la quota di ormoni attivi riversati è pressoché minima o nulla.

Nella donna il ruolo dei precursori DHEA-s, DHEA e dell'androstenedione nella formazione di estrogeni ed androgeni riveste una notevole importanza. Si stima infatti che la formazione intracrina di estrogeni contribuisca per circa il 75% prima della menopausa e per il 100% dopo la menopausa alla quota estrogenica

totale; ne discende che l'unica fonte di estrogeni ed androgeni per la donna in post-menopausa è rappresentata dal DHEA e che, al contrario di quanto si pensava prima, l'ovaio non rappresenta quindi l'unica fonte di steroidi sessuali.

In età fertile il DHEA viene prodotto per l'80% dalle ghiandole surrenali e per il 20% dalle ovaie. La sua produzione varia all'aumentare dell'età iniziando a decrescere dopo il trentesimo anno. Si stima che al momento della menopausa circa il 60% della quota totale di DHEA venga persa. Tale marcata riduzione, insieme al depauperamento della quota ovarica di ormoni, contribuisce quindi alla genesi di tutte le conseguenze patologiche della menopausa quali l'osteoporosi, l'accumulo di grasso, l'insulino-resistenza, la perdita di massa muscolare, il diabete di tipo 2, la GSM, l'atrofia della pelle e la perdita di memoria.

Tuttavia, è stato osservato che la quota di DHEA nelle donne in post-menopausa, anche se ridotta, è estremamente variabile da una donna all'altra, tant'è che in alcune è appena dosabile mentre in altre può raggiungere valori superiori ai 9-10 ng/ml. A ciò si aggiunge il fatto che, nonostante la perdita della secrezione di estrogeni sia presente in tutte le donne al momento della menopausa, non tutte hanno gli stessi sintomi climaterici e con eguale severità. Di conseguenza, la differente predisposizione all'insorgenza dei sintomi menopausali non è correlata soltanto ai livelli di estrogeni, ma anche alla disponibilità di DHEA, l'unica fonte di steroidi nelle donne in post-menopausa[55].

L'arresto della secrezione di estrogeni da parte delle ovaie durante la menopausa combinato con la diminuzione della secrezione del precursore degli steroidi sessuali DHEA da parte delle ghiandole surrenali a partire dall'età di 30 anni e proseguendo dopo la menopausa[56], è accompagnato da una vasta serie di sintomi/segni associati al processo di invecchiamento a livello di vagina, sistema genito-urinario, sistema vasomotorio, pelle, scheletro, cervello, sistema cardiovascolare e probabilmente a vari livelli in tutti gli altri sistemi corporei[57].

La trasformazione intracellulare del DHEA in estrogeni, a livello vaginale, è apparentemente responsabile della maturazione delle cellule parabasali che vengono trasformate in cellule intermedie e poi in cellule superficiali[58]. È stato altresì dimostrato che il DHEA è in grado di indurre la produzione di muco da parte dell'epitelio o strato superficiale della mucosa vaginale, aumentare la densità delle fibre di collagene e stimolare lo strato muscolare[59].

Molti sono i progressi compiuti nel campo dell'intracrinologia, come l'individuazione di geni specifici che codificano gli enzimi steroidogenici responsabili della trasformazione del DHEA in androgeni e/o estrogeni localmente nei tessuti periferici[60]. Infatti, nessun rilascio biologicamente significativo di steroidi sessuali attivi avviene nella circolazione in seguito alla somministrazione di DHEA intravaginale, spiegando così gli effetti altamente benefici osservati nella vagina in assenza di cambiamenti significativi negli estrogeni o androgeni circolanti. Come accennato in precedenza, gli steroidi attivi vengono inattivati localmente nella vagina prima di essere rilasciati come metaboliti inattivi nella circolazione sistemica, da cui vengono eliminati dai reni e dal fegato.

4.9 *Conclusioni*

I dati osservati sembrano dimostrare che un trattamento con DHEA intravaginale possa essere una soluzione terapeutica ideale nel trattamento della GSM per vari motivi:

1. è un trattamento che permette di avere sia una azione estrogenica che androgenica andando ad agire su tutte quelle componenti tissutali che a causa del calo ormonale, dovuto alla menopausa, hanno subito un'alterazione sia strutturale che funzionale;

2. la sua azione esclusivamente locale a livello uro-genitale e la non interferenza con i normali range ormonali post-menopausali potrebbero essere le caratteristiche chiave di sicurezza per il suo utilizzo nel trattamento della GSM anche in donne con storia di neoplasie estrogeno-dipendenti.
3. Non agisce a livello endometriale grazie al suo meccanismo intracrino di metabolizzazione che garantisce l'efficacia locale e la sicurezza periferica;
4. È un trattamento che è risultato ben accettato dalle pazienti. In uno studio di Montesino et al. è stato osservato come il 92-94% delle pazienti reclutate erano soddisfatte della terapia e disposte a proseguirla anche nel futuro[61].
5. Vista l'assenza di effetti ormonali sistemici, e visto che la GSM richiede un trattamento a lungo termine, potrebbe essere la terapia ideale per le donne riluttanti ad intraprendere una terapia estrogenica a causa delle note controindicazioni.
6. La sua efficacia riguarda sia il trattamento dei sintomi della VVA che dei sintomi inerenti la sfera sessuale; tuttavia, la sua azione anche sugli strati più profondi dell'epitelio vaginale fa pensare che potrebbe essere un valido trattamento anche per i disturbi correlati alle alterazioni del pavimento pelvico, come l'incontinenza urinaria.

L'emergenza Covid-19, in questo ultimo anno, ha determinato una significativa restrizione degli accessi alle strutture ambulatoriali, limitando fortemente le possibilità di reclutamento di nuove pazienti. Ciononostante, gli esiti preliminari positivi del trattamento a base di DHEA intravaginale ci spingono a continuare lo studio per raggiungere la quota significativa di pazienti e quindi la potenza statistica necessaria alla dimostrazione definitiva della validità del trattamento.

5 Effetti di un integratore orale a base di cucurbita maxima e capsicum annum sui sintomi di vescica iperattiva in una popolazione femminile. Studio osservazionale.

In un secondo protocollo di ricerca, edito a stampa nel 2020, sono stati valutati, in uno studio osservazionale, gli effetti di un integratore orale a base di cucurbita maxima e capsaicina sui sintomi della vescica iperattiva in una popolazione femminile. La prevalenza della vescica iperattiva (OAB- overactive bladder) nelle donne aumenta con l'età ed è presente in circa il 30% delle donne di età superiore ai 65 anni. Un'alta percentuale di pazienti sottoposti a terapia farmacologica interrompe il trattamento per effetti collaterali e/o per i costi elevati.

Abbiamo valutato se l'utilizzo un integratore alimentare (Kubiker®), costituito da vitamine, cucurbita maxima, capsicum annum, polygonum cuspidatum e L-Glutammina, per il controllo dei sintomi urinari, potesse essere una valida alternativa alle terapie farmacologiche. Pertanto, l'obiettivo è stato quello di valutare l'efficacia e la tollerabilità di questo integratore orale nelle donne affette da OAB (overactive bladder).

È stato effettuato uno studio di coorte retrospettivo, longitudinale, osservazionale, su 84 pazienti affette da OAB, che hanno ricevuto una prescrizione di Kubiker® per 12 settimane (2 compresse al giorno per il primo mese, poi 1compressa al giorno per 2 mesi). L'outcome primario è stato verificare l'efficacia della terapia tramite il questionario PGI-I (Patient Global Impression of Improvement) dopo 12 settimane di terapia.

L'outcome secondario è stato quello di valutare la differenza nelle risposte del questionario sulla vescica iperattiva (OAB-Q) prima e dopo la terapia. È stata valutata anche l'aderenza alla terapia. I dati hanno mostrato un effetto positivo di

Kubiker® nel controllo dei sintomi urinari dopo 12 settimane di trattamento. Il t-test per dati appaiati, utilizzato per la valutazione dell'OAB-S prima e dopo il trattamento ha mostrato un valore $p < 0.001$. L'analisi di tale questionario ha mostrato in particolare un miglioramento delle risposte in merito ai sintomi dell'urgenza minzionale e dell'incontinenza da urgenza. In conclusione, la terapia con integratore orale a base di vitamine (C e D), cucurbita maxima, capsicum annum, polygonum cuspidatum e L-glutammina è risultato un trattamento efficace e ben tollerato per il trattamento della vescica iperattiva. Tutte queste osservazioni hanno suggerito che un prodotto contenente questi principi può rappresentare una valida alternativa nel trattamento della vescica iperattiva, soprattutto in tutte quelle condizioni in cui è controindicato il trattamento farmacologico (antimuscarinici o mirabegron). Questo studio ha dimostrato che questo integratore può migliorare la qualità della vita dei pazienti con vescica iperattiva, garantendo un soddisfacente grado di aderenza alla terapia, grazie alla sua tollerabilità e agli scarsi effetti locali, nonché ai costi contenuti rispetto alle comuni terapie farmacologiche, costituendo una valida alternativa anche in fase di mantenimento.

5.1. *Introduzione*

La vescica iperattiva (OAB) è un disturbo urinario comune, definito dall'International Continence Society (ICS) come una sindrome caratterizzata da urgenza minzionale, associata o meno ad incontinenza da urgenza, di solito accompagnata da aumentata frequenza minzionale e nicturia, che inficia la qualità della vita, soprattutto nelle donne in post menopausa, per lo più ancora socialmente e sessualmente attive. In aggiunta, le pazienti anziane che risultano affette da urgenza minzionale e/o nicturia, nel difficoltoso tentativo di raggiungere il bagno, sono ad alto rischio di fratture ossee e quindi di mortalità, dimostrando

ancora una volta come tali affezioni siano da considerarsi un problema di *Sanità Pubblica*, necessitando di sforzi clinici per la prevenzione e il loro trattamento.

I sintomi della vescica iperattiva sono comunemente osservati nelle pazienti con disfunzione delle basse vie urinarie. Recenti evidenze scientifiche hanno dimostrato un ruolo determinante dell'ureotelico nella genesi degli stimoli irritativi responsabili della sindrome della vescica iperattiva. Crescente è quindi l'interesse della comunità scientifica verso il concetto di *bladder aging*: se da un lato sono state riscontrate, a livello del sistema nervoso centrale e attraverso tecniche di imaging, alterazioni legate all'età delle strutture encefaliche predisposte al controllo della minzione, dall'altro alterazioni tissutali sono state riconosciute, con un aumento del pattern infiammatorio, anche a livello dell'ureotelio, oltre ad un aumento della fibrosi del detrusore, con conseguente instabilità dello stesso. Nella sindrome della vescica iperattiva, così come nella sindrome della vescica dolorosa (PBS) e nella cistite interstiziale (IC), l'ureotelico spesso sembra essere danneggiato probabilmente, a causa della ridotta attività proliferativa. Questa condizione aumenta la permeabilità cellulare, danneggiando i componenti ureoteliali e inducendo sintomi sensoriali come urgenza, dolore, aumentata frequenza minzionale e così via. I sintomi della vescica iperattiva sono anche comuni a quelli di IC / PBS e la diagnosi differenziale tra queste condizioni non è sempre agevole. Infatti, se prima si pensava che l'IC/PBS fosse caratterizzata da un quadro macroscopico e microscopico di tipo ulcerativo, diagnosticato principalmente per la presenza delle ulcere di Hunner o di emorragie della mucosa vescicale (glomerulazioni), altre prove successive hanno indicato che l'IC/PBS può non mostrare ulcerazioni. Urgenza, aumentata frequenza minzionale e nicturia sono di fatto sintomi comuni sia nell' OAB che nell' IC/ PBS. Tuttavia, queste condizioni possono essere differenziate dalla presenza di incontinenza da urgenza nei pazienti con OAB e dolore pelvico nei pazienti con IC/PBS.

I sintomi urinari dell'OAB dovrebbero essere sempre presi in considerazione nelle pazienti oncologiche. In effetti, la funzionalità vescicale può essere compromessa anche dopo la chirurgia pelvica per neoplasia ginecologica. Kruppa J. et al. in uno studio pilota prospettico hanno dimostrato che, sebbene un'isterectomia radicale che risparmia i nervi non causi una disfunzione minzionale, può tuttavia indurre iperattività del detrusore e incontinenza da urgenza, probabilmente a causa di un minimo danno ai nervi periferici, con conseguente compromissione della qualità della vita della paziente. Su quest'ultimo punto, i risultati dello studio EPIC hanno mostrato che l'OAB ha un impatto sostanziale e multidimensionale sui pazienti, con danni alla salute, tassi più elevati di depressione e un minore grado di soddisfazione sessuale.

La prevalenza dell'OAB nelle donne aumenta con l'età ed è presente in circa il 30% delle donne di età superiore ai 65 anni. Oltre alla terapia comportamentale, i farmaci antimuscarinici e beta 3 agonisti (mirabegron) rappresentano la terapia di scelta, sebbene un'alta percentuale di pazienti interrompa il trattamento dopo alcuni mesi, soprattutto per effetti collaterali e costi.

La Rosa L. *et al*. in una recente revisione sistematica hanno confrontato gli effetti della terapia comportamentale (Bladder Training- BT) e della terapia farmacologica (Drug Therapy-DT) sul trattamento dell'OAB: l'analisi quantitativa non ha mostrato differenze tra trattamento comportamentale e trattamento farmacologico per quanto riguarda i sintomi urinari dei pazienti affetti da OAB negli studi inclusi, dimostrando che entrambi i trattamenti sono efficaci nel migliorare e ridurre i sintomi. Tuttavia, tali farmaci causano alti tassi di insorgenza di effetti avversi, il ché si traduce in una bassa aderenza al trattamento; d'altra parte, studi futuri potrebbero utilizzare protocolli più omogenei di BT, basati su rieducazione vescicale, strategie di controllo, pelvic floor muscle training (PFMT) e gestione dell'introito di liquidi, come raccomandato dalle linee guida dell'American Urological Association.

La medicina alternativa è stata utilizzata anche nella gestione dell'OAB. Per migliaia di anni, i medicinali a base di erbe sono stati tradizionalmente utilizzati per il trattamento di differenti patologie e condizioni, tra cui la OAB e i sintomi del basso tratto urinario (LUTS). Liu YL et al. hanno esaminato l'uso della medicina tradizionale cinese e degli integratori a base di erbe, come la capsaicina e l'estratto di olio di semi di zucca, per il trattamento della OAB, dimostrando che tali preparati hanno effetti specifici su tale condizione, senza gravi effetti avversi, e che sembrano anche essere sicuri, efficaci e degni di un uso clinico.

L'utilizzo di un integratore alimentare (Kubiker®), composto da vitamine (C e D), cucurbita maxima, capsicum annum, polygonum cuspidatum e L-glutammina, nel controllo dei sintomi urinari, potrebbe rappresentare una valida alternativa. I suoi componenti, infatti, sono stati valutati individualmente per il loro effetto positivo sui sintomi urinari: inoltre, in uno studio randomizzato e controllato, Vecchioli-Scaldazza *et al*. hanno già dimostrato l'efficacia e la sicurezza di questo integratore orale nelle donne affette da sindrome della vescica iperattiva, confrontandolo con la solifenacina succinato.

Nel presente lavoro è stata effettuata un'analisi retrospettiva per valutare l'efficacia e la tollerabilità di questo integratore orale nelle donne affette da OAB.

5.2.*Materiali e metodi*

Si tratta di uno studio di coorte retrospettivo, longitudinale, osservazionale, effettuato su pazienti afferenti all'ambulatorio di Uroginecologica del DAI Materno Infantile dell'AOU Federico II, da gennaio 2018 a giugno 2019 perché affette da vescica iperattiva. Per tale condizione, avevano ricevuto la prescrizione di un integratore orale a base di vitamine C (265 mg per compressa) e D (10 mcg per compressa), Cucurbita maxima (50 mg per compressa), Capsicum annum (10 mg per compressa), Polygonum cuspidatum (10,20 mg per compressa) e L-Glutammina (200 mg per compressa), per 12 settimane, alla dose di 1 compressa

due volte al giorno (mattina e sera) per il primo mese, come terapia d'attacco, e 1 compressa al giorno (la sera) per i restanti 2 mesi, a stomaco pieno, per evitare possibili conseguenze gastriche legate alla somministrazione di capsaicina. Le pazienti hanno ricevuto questo integratore orale in sostituzione della terapia farmacologica tradizionale per la presenza di controindicazioni all'uso di anticolinergici (glaucoma, stipsi, grave malattia epatica) o beta 3 agonisti (ipertensione arteriosa non controllata).

La diagnosi di OAB è stata eseguita mediante esame clinico (pazienti con sintomi di urgenza, frequenza minzionale, con o senza incontinenza da urgenza, nicturia) e attraverso la somministrazione di uno specifico questionario, Overactive Bladder Screener (OAB-s). L'efficacia sulla qualità della vita è stata valutata mediante il questionario Patient Global Impression of Improvment (PGI-I), al termine della terapia. L' OAB-S, come già visto, consiste di 8 item relativi all'impatto che i sintomi urinari determinano sulle attività quotidiane, con 6 possibili opzioni che vanno da "per niente" (punteggio 1) a "moltissimo " (punteggio 6). Il secondo questionario è il questionario Patient Global Impression of Improvement (PGI-I), una scala a 7 punti che varia da "molto migliorato" (punteggio 1), a "molto peggiorato" (punteggio 7) e valuta il miglioramento o il deterioramento complessivo che le pazienti sperimentano dopo il trattamento.

Sono state escluse le pazienti con infezione del tratto urinario, malattia neurologica, prolasso genitale superiore al II stadio POP-Q, tumori pelvici, radioterapia, assunzione di antidepressivi e agenti ansiolitici, per evitare la concomitanza di fattori confondenti. Per gli stessi motivi sono stati escluse anche le pazienti sottoposte contemporaneamente a fisioterapia del pavimento pelvico, terapia ormonale sostitutiva o estrogeni topici. Sono state incluse solo i pazienti con nuova prescrizione; sono state escluse le pazienti che avevano già assunto altri farmaci per il trattamento della vescica iperattiva, nei 3 mesi precedenti. Alle pazienti non è stato chiesto di adottare strategie comportamentali, come la

gestione dell'introito di liquidi, l'evitare assunzione di caffeina, la perdita di peso corporeo e la terapia di controllo delle minzioni (bladder training).

L'obiettivo primario è stato quello di verificare l'efficacia di questa terapia sui sintomi urinari, attraverso la somministrazione del questionario PGI-I dopo 12 settimane di terapia. L'outcome secondario è stato quello di valutare la differenza nelle risposte dell'OAB-S prima e dopo la terapia; abbiamo valutato anche l'aderenza alla terapia durante il periodo di somministrazione. Le pazienti che hanno disatteso il controllo programmato dopo 12 settimane di trattamento hanno ricevuto una telefonata per completare i questionari e valutare l'andamento della terapia.

5.2.1 *Approvazione etica*

Lo studio è stato condotto nel rispetto dei requisiti nazionali e dell'Unione Europea che garantiscono i diritti dei partecipanti a studi non interventistici. I dati presentati sono una raccolta di audit clinici registrati in ospedale. Tutti i pazienti hanno dato il loro consenso informato scritto per il trattamento dei dati personali prima di eseguire la procedura.

5.3 *Analisi statistica*

L'analisi statistica è stata eseguita utilizzando il programma Statistical Package for Social Sciences (SPSS) v. 19.0 (IBM Inc., Armonk, NY, USA). I dati sono mostrati come media e deviazione standard (SD), o come mediane (intervallo) o come numero (percentuale). Per il confronto di due misurazioni in un campione (dati continui parametrici), è stato utilizzato un t-test per dati appaiati. Un valore $p<0,05$ è stato considerato indicativo di significatività statistica. I dati sono stati confrontati prima e dopo il trattamento con integratore orale a base di cucurbita maxima e capsicum annum.

5.4 *Risultati*

Novantanove pazienti sono state inizialmente valutate, ma 15 non hanno completato lo schema terapeutico: 5 a causa dell'insorgenza di gastralgia, probabilmente dovuto alla piccola dose di capsaicina, mentre 10 pazienti hanno riferito di aver interrotto la terapia dopo circa 1 mese per mancanza di benefici. Pertanto, sono state valutate ottantaquattro cartelle cliniche ambulatoriali.

I dati della storia clinica hanno mostrato che le pazienti incluse nello studio riferivano urgenza urinaria nell'85,3%, incontinenza da urgenza nel 73%, aumento della frequenza minzionale nel 70% dei casi e nicturia nel 65,8% dei casi. Inoltre, il 92,5% dei pazienti lamentava contemporaneamente 2 o più sintomi. Dopo 12 settimane di terapia, la mediana+deviazione standard ottenuta con i punteggi derivanti dal PGI-I era di 2,83 + 0,72, mostrando un effetto positivo di Kubiker nel controllo dei sintomi urinari. Questo valore, infatti, riflette un numero statisticamente significativo di risposte "molto migliorata" e "lievemente 'migliorata" al questionario, a dimostrazione di un certo grado di soddisfazione espressa dalle pazienti trattate con questo integratore. Inoltre, il t-test per dati appaiati, per la valutazione dell'OBS prima e dopo il trattamento, ha mostrato un valore di $p < 0{,}001$. L'analisi di questo questionario ha evidenziato soprattutto un miglioramento delle risposte riguardanti i sintomi di urgenza minzionale e incontinenza da urgenza, più marcato rispetto alle risposte riguardanti la frequenza minzionale.

5.5 *Discussione*

Il trattamento con integratore orale a base di vitamine (C e D), cucurbita maxima, capsicum annum, polygonum cuspidatum e L-glutammina, è risultato efficace nel ridurre i sintomi urinari nelle donne affetto da OAB. Le ragioni sono da ricercare nella composizione del prodotto, i cui componenti sono stati valutati

individualmente per il loro effetto sui sintomi urinari. Fattori *et al*. hanno dimostrato che la capsaicina sembra avere un effetto protettivo nei confronti dei disturbi vescicali. Uno studio sugli animali ha dimostrato che il pretrattamento con capsaicina (125 mg / kg, s.c.) era in grado di prevenire l'iperreflessia del detrusore indotta da lesioni del midollo spinale nei ratti. L'effetto della capsaicina è correlato all'azione sui recettori Transient Receptor Potential Vanilloid Type 1 (TRPV1) nel tratto urinario, non solo nelle fibre sensoriali che innervano queste strutture ma anche nelle cellule uroteliali. Studi in vitro su cellule uroteliali prelevate da vesciche di pazienti affetti da vescica iperattiva non neurogena, hanno dimostrato che l'espressione e l'attivazione di TRPV1, così come la sensibilità alla capsaicina, risultano aumentate rispetto a quanto evidenziato nelle vesciche di volontari sani. L'effetto della capsaicina sui recettori TRPV1 nelle fibre C porta ad attivazione seguita da desensibilizzazione; essa, infatti, è sia responsabile dell'effetto benefico sull'attività della vescica, ma anche dalla sensazione di dolore iniziale dovuta al suo utilizzo.

Shim *et al*. hanno studiato l'efficacia e l'utilità di cucuflavone (compresse con una miscela di estratti vegetali a base di 87,5% di semi di Cucurbita pepo e 12,5% di soia) nel ridurre i sintomi della OAB. I risultati hanno mostrato che l'incontinenza urinaria, la frequenza delle minzioni quotidiane e notturne erano significativamente ridotte rispetto ai parametri iniziali. Nishimura et al. hanno ottenuto risultati simili. Hanno confermato l'efficacia dell'olio di semi di cucurbita maxima sui disturbi urinari nell'OAB.

La glutammina è l'amminoacido più abbondante nel sangue. Oltre al suo ruolo di costituente delle proteine e alla sua importanza come combustibile metabolico, la glutammina ha anche effetti non nutritivi, inclusa la regolazione dell'equilibrio redox cellulare, del volume cellulare, del metabolismo del glutatione e dell'attenuazione dello stress ossidativo. Diversi studi hanno dimostrato che la somministrazione di glutammina attenua lo stress ossidativo e

protegge dal danno vescicale indotto dalla radioterapia, in particolare per quel che concerne la densità volumetrica della matrice extracellulare e l'espressione del collagene. Questo rappresenta un ottimo prerequisito per l'utilizzo di questa molecola nelle patologie irritative delle basse vie urinarie.

Maserejian *et al*. in un'analisi trasversale eseguita sugli effetti dell' assunzione di vitamine e minerali sui disturbi urinari nelle donne, hanno scoperto che le pazienti che avevano assunto alte dosi di integratori a base di vitamina C avevano maggiori probabilità di riportare sintomi di riempimento rispetto a sintomi di aumentata frequenza e urgenza minzionale, mentre la vitamina C assunta mediante cibo e bevande era inversamente associata a sintomi della fase di svuotamento. Pertanto la vitamina C può contribuire al controllo dei LUTS in maniera dose-dipendente e sintomo-specifica e per alcune donne, i sintomi di frequenza e urgenza dell'OAB potrebbero essere migliorati dalla assunzione di giuste dosi di vitamina C.

La vitamina D si è dimostrata efficace nel trattamento dell'incontinenza urinaria e la sua carenza è stata associata a incontinenza urinaria da moderata a grave e alla presenza di LUTS. Un'analisi trasversale eseguita utilizzando i dati del National Health and Nutrition Examination Survey 2005-2006 sulla vitamina D e sui disturbi del pavimento pelvico nelle donne, ha dimostrato come livelli più elevati di vitamina D fossero associati a un minor rischio di disturbi del pavimento pelvico.

Vecchioli-Scaldazza *et al*. hanno eseguito uno studio randomizzato e controllato che confronta l'efficacia e la sicurezza dello stesso integratore orale rispetto alla solifenacina succinato, nelle donne affette dalla sindrome dell'OAB. In queso studio hanno utilizzato un dosaggio differente dell'integratore (2 compresse al giorno per 12 settimane). I risultati hanno mostrato che la qualità della vita delle pazienti, valutata mediante il questionario 'OAB-q SF, ha riportato

un miglioramento significativo sia nel gruppo trattato con la solifenacina che in quello trattato con integratori orali. Tuttavia, l'integratore orale è stato significativamente più efficace nel miglioramento sia della qualità della vita che dei sintomi.

Nel nostro studio abbiamo cercato di valutare un diverso dosaggio, con una dose di attacco (2 compresse al giorno per 1 mese) e una dose di mantenimento (1 compressa al giorno per 2 mesi): questa scelta è stata dettata soprattutto dal tentativo di ridurre i costi del trattamento, dal momento che una delle principali ragioni della scarsa aderenza alla terapia farmacologica di prima scelta risiede proprio nelle ragioni economiche, oltre che nella comparsa di effetti collaterali. Abbiamo dimostrato che anche con questo dosaggio è possibile controllare i sintomi urinari nelle donne affette da OAB.

Tutte queste osservazioni autorizzano a pensare che un prodotto contenente questi principi possa rappresentare una valida alternativa nel trattamento della vescica iperattiva, soprattutto in tutte quelle condizioni che controindicano l'uso dei preparati farmacologici (antimuscarinici o mirabegron).

Il nostro studio dimostra che questo integratore può migliorare la qualità della vita delle pazienti affette da vescica iperattiva, garantendo un soddisfacente grado di aderenza alla terapia, grazie alla sua tollerabilità e agli scarsi effetti locali.

5.5 *Conclusioni*

Questo studio ha due limitazioni principali: il disegno a singolo braccio, non in cieco, che non è in grado di limitare l'effetto placebo, e il numero esiguo di pazienti incluse nella valutazione. Inoltre, l'analisi retrospettiva non consente di valutare con precisione l'influenza di eventuali altre misure adottate dalle pazienti durante il periodo di valutazione (es. variazioni dietetiche). Tuttavia, da

questi dati preliminari, è possibile concludere che la terapia con un integratore orale a base di vitamine (C e D), cucurbita maxima, capsicum annum, polygonum cuspidatum e L-glutammina rappresenta una valida alternativa al trattamento farmacologico della sindrome da OAB, soprattutto in quelli pazienti che presentano controindicazioni.

Sono necessari ulteriori studi e un maggior numero di pazienti per confermare questi risultati.

G Model
AIMED 240 No. of Pages 5

ARTICLE IN PRESS

Advances in Integrative Medicine xxx (2019) xxx–xxx

Contents lists available at ScienceDirect

Advances in Integrative Medicine

journal homepage: www.elsevier.com/locate/aimed

Effects of an oral supplement based on cucurbita maxima and capsicum annum on symptoms of overactive bladder in female population: an observational study

Annamaria Fabozzi[a], Luigi Della Corte[b,*], Carmen Formisano[b], Pierluigi Giampaolino[a], Carmine Nappi[a], Giuseppe Bifulco[b]

[a] Department of Public Health, University of Naples Federico II, Naples, Italy
[b] Department of Neuroscience, Reproductive Sciences and Dentistry, School of Medicine, University of Naples Federico II, Naples, Italy

ARTICLEINFO

Article history:
Received 3 March 2020
Received in revised form 29 March 2020
Accepted 13 May 2020
Available online xxx

Keywords:
Capsicum
Cucurbita
L-Glutamine
Overactive bladder

ABSTRACT

Introduction: The prevalence of overactive bladder (OAB) in women increases with age and is present in approximately 30 % of women over the age of 65 years. A high percentage of patients undergoing pharmacological therapy discontinue treatment for side effects and costs. Using an oral supplement (Kubiker[1]), consisting of vitamins, cucurbita maxima, capsicum annum, polygonum cuspidatum and L-Glutammin, for the control of urinary symptoms, could be a valid alternative.
Objective: To assess the efficacy and tolerability of this oral supplement in women affected by OAB.
Methods: We performed a retrospective, longitudinal, observational, cohort study of 84 patients affected by OAB, who received a prescription of Kubiker[1] for 12 weeks (2 tablets a day for the first month, then 1 tablet a day for 2 months). Primary outcome was to check the efficacy of therapy through questionnaire Patient global impression of improvement (PGI-I) after 12 weeks of therapy. The secondary outcome was to evaluate the difference in the answers of the Overactive Bladder Questionnaire (OAB-Q) before and after therapy. Adherence to therapy was also evaluated.
Results: Data showed a positive effect of Kubiker[1] in the control of urinary symptoms after 12 weeks of therapy. Paired *t*-test used for the evaluation of *OBS* before and after the treatment showed a p-value < 0.001. The analysis of this questionnaire especially showed an improvement in the responses concerning the symptoms of urination urgency and urge incontinence.
Conclusion: Therapy with oral supplement based on vitamins (C and D), cucurbita maxima, capsicum annum, polygonum cuspidatum and L-Glutammin is an effective and well-tolerated treatment for overactive bladder.

© 2020 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Overactive bladder (OAB) is a common urinary disorder, defined by the International Continence Society (ICS) [1] as a syndrome with urgency, associated or not to urge incontinence, usually with frequency and nocturia, that affect a great influence on the quality of life, especially in postmenopausal women. This syndrome can significantly affect the quality of life of women, mostly still socially and sexually active. Therefore, elderly people with urgency or nocturia are at great risk for bone fracture and mortality [2,3]. Thus, prevention and treatment of urinary disorders are expected to improve this problem.

OAB symptoms are commonly observed in patients with dysfunction of the lower urinary tract. Recent scientific evidence has demonstrated an important role of the urothelium in the genesis of irritative stimuli responsible for overactive bladder syndrome [4]. The scientific community's interest in bladder aging is growing: if on the one hand age-related alterations to the encephalic structures predisposed to urination control have been found at the level of the central nervous system and through imaging techniques, on the other hand, tissue changes have been recognized, with an increased inflammatory pattern, also at the urothelium level, as well as increased fibrosis of the detrusor, with consequent instability of the same. In overactive bladder syndrome, as well as in painful bladder and interstitial cystitis (IC) and in painful bladder syndrome (PBS), the urothelium often

* Corresponding author at: Department of Neuroscience, Reproductive Sciences and Dentistry, University of Naples Federico II, Via Pansini n° 5, 80131, Naples, Italy.
E-mail address: dellacorte.luigi25@gmail.com (L. Della Corte).

https://doi.org/10.1016/j.aimed.2020.05.003
2212-9588/© 2020 Elsevier Ltd. All rights reserved.

appears to be damaged probably due to reduced proliferative activity [5,6]. This condition increases cell permeability, damaging the urothelial components and inducing sensory symptoms such as urgency, pain, voiding frequency, and so on [6,7].

Symptoms of overactive bladder are also common to IC/PBS and the differential diagnosis of these two diseases is not always easy. Indeed, if before IC/PBS was thought to be only ulcerative, and primarily diagnosed according to the presence of Hunner's ulcer or mucosal hemorrhages in the bladder (glomerulations), other following evidence has indicated that IC/PBS can be non- ulcerative as well [8]. Urgency, frequency, and nocturia are common symptoms of both OAB and IC/PBS. However, these conditions may be differentiated by the presence of urgency- urge incontinence in patients with OAB and pelvic pain in IC/ PBS patients [9].

Urinary symptoms such as OAB should always be evaluated in cancer patients. In fact, bladder function may be impaired after pelvic surgery in women diagnosed with gynecologic malignancy. Kruppa J. et al. in a prospective pilot study showed that, though a nerve-sparing radical hysterectomy does not cause voiding dysfunction, it may induce detrusor overactivity and urge incontinence, probably due to minimal peripheral nerve damage, leading to impaired quality of life [10]. On this last point, results from the EPIC study showed that OAB has a substantial, multidimensional impact on patients; OAB with additional LUTS has significantly greater symptom bother, worse health-related quality of life, higher rates of depression and decreased enjoyment of the sexual activity, than the other subgroups [11].

The prevalence of OAB in women increases with age and is present in approximately 30 % of women over the age of 65 years. In addition to educational therapy, antimuscarinic agents or mirabegron represent the therapy of choice, although a high percentage of patients discontinue the treatment after a few months especially for side effects and costs [12,13].

La Rosa L. et al. in a recent systematic review compared the effects of behavioral therapy (BT) and drug therapy (DT) on the treatment of OAB: the quantitative analysis showed no differences between behavioral treatment and pharmacological treatment regarding the urinary symptoms of patients with OAB in the included studies, demonstrating that both treatments are effective in improving and reducing OAB symptoms. However, such drugs cause high rates of occurrence of adverse effects, which results in low adherence to treatment; on the other hand, future studies on BT could use more homogeneous protocols of BT, making use of bladder training, control strategies, PFMT, and water management, according to the guidelines of the American Urological Association, in addition to adequate control of the patients' adherence to home treatment [14].

Alternative medicine has been used in the management of OAB. Over thousands of years, herbal medicines have traditionally been used for the treatment of various diseases and conditions, including OAB and lower urinary tract symptoms (LUTS). Liu YL et al. examined the use of traditional Chinese medicine and herbal supplements, such as capsaicin and pumpkin seed oil extract, for OAB treatment, stating that they have specific effects on this condition, with no severe adverse effects, and also appearing to be safe, efficacious, and worthy of clinical use [15].

Using a dietary supplement (Kubiker[1]), consisting of vitamins (C and D), cucurbita maxima, capsicum annum, polygonum cuspidatum and L-Glutammin, that manages to control urinary symptoms, could be a valid alternative. Indeed, its constituents have been individually evaluated for their positive effect on urinary symptoms: moreover, in randomized controlled trials, Vecchioli-Scaldazza et al. has already demonstrated the efficacy and safety of this oral supplement in women affected by overactive bladder syndrome, comparing it to solifenacin succinate [16].

We performed an retrospective analysis to assess the efficacy and tolerability of this oral supplement in women affected by OAB.

1. Materials and methods

This was a retrospective, longitudinal, observational, cohort study of women referred to our Department of Neuroscience, Reproductive Sciences and Dentistry University Federico II of Naples from January 2018 to June 2019 and affected by overactive bladder.For this condition, they had received a prescription of oral supplement based on vitamins C (265 mg per tablet) and D (10 mcg per tablet), cucurbita maxima (50 mg per tablet), capsicum annum (10 mg per tablet), polygonum cuspidatum (10,20 mg per tablet) and L-Glutammin (200 mg per tablet), for 12 weeks, at the dosage of 1 tablet twice daily (in the morning and evening) for the first month, as to attack therapy, and 1 tablet a day (in the evening) for the remaining 2 months, with a full stomach, to avoid possible stomach ache related to the administration of capsaicin. Patients received this oral supplement instead of traditional medical therapy for the presence of contraindications to the use of anticholinergics (glaucoma, constipation, severe liver disease) or beta 3 agonists (uncontrolled arterial hypertension).

Diagnosis of OAB was performed by clinical examination (patients with symptoms of urgency, urinary frequency, with or without urge incontinence, nocturia) and through the administration of a specific questionnaire, *Overactive Bladder Questionnaire (OAB-Q)* [17]. The efficacy on quality of life was evaluated by the questionnaire *Patient global impression of improvement (*PGI-I*),* at the end of therapy. The Overactive Bladder Questionnaire (OAB-Q) consists of 8 items related to symptoms with 6 possible options ranging from "not at all" (score 1) to "a very great deal" (score 6). The second questionnaire is the Patient Global Impression of Improvement questionnaire (PGI-I), a 7-point scale that ranges from "very much improved" (score 1), to "very much worse" (score 7) and assesses the overall improvement or deterioration that patients experience following the treatment [18].

Patients with urinary tract infection, neurological disease, genital prolapse greater than stage II on POP-Q, pelvic tumors, radiation therapy, antidepressants and antianxiety agents, were excluded, to avoid the concomitance of confounding factors. For the same reasons, also patients undergoing at the same time pelvic floor physical therapy, hormonal replacement or topical estrogen, were excluded. Only patients with a new prescription were included; patients with a prescription for other drugs for the treatment of overactive bladder, in the 3 months before, were excluded. Patients were not asked to adopt behavior strategies, such as fluid management, avoidance of caffeine intake, body weight loss, and bladder control therapy.

The primary objective was to check the efficacy of this therapy on urinary symptoms, through the administration of the questionnaire *Patient global impression of improvement (*PGI-I*)* after 12 weeks of therapy. The secondary outcome was to evaluate the difference in the answers of the OAB-Q before and after therapy; we also evaluated the adherence to therapy during the period of administration. Patients who had missed the planned check-up after 12 weeks of treatment had received a phone call to complete the questionnaires and evaluate the progress of the therapy.

1.1. Ethical approval

The study was conducted in compliance with national and European Union requirements ensuring the rights of participants in non-interventional studies. The data presented are a collection of hospital-registered clinical audits. All patients gave their written informed consent for the

Italian or European guidelines because this was classified as a hospital audit of current clinical practice.

1.1. Statistical analysis

Statistical analysis was performed using Statistical Package for Social Sciences (SPSS) v. 19.0 (IBM Inc., Armonk, NY, USA). Data are shown as means ± standard deviation (SD), or as medians (range), or as number (percentage). For the comparison of two measure- ments in one sample (parametric continuous data), a Paired *t*-test was used. A p-value <0.05 was considered to indicated statistical significance. Data were compared before and after treatment with oral supplement based on cucurbita maxima and capsicum annum. This study was reported following the STROBE guidelines.

2. Results

Ninety-nine patients were initially analyzed, but 15 did not complete the therapeutic scheme: 5 because of the onset of stomach ache, probably due to the little dose of capsaicin, while 10 patients reported stopping therapy after about 1 month as they did not benefit. Thus, eighty-four outpatient clinical records were evaluated. The characteristics of the patients included in the study are reported in Table 1. Data from clinical history showed that the patients included in the study reported urinary urgency in 85.3 %, urge incontinence in 73 %, increased urination frequency in 70 % of cases and nocturia in 65.8 % of cases. Moreover, 92.5 % of patients complained of 2 or more symptoms. After 12 weeks of therapy, the median + standard deviation obtained with the PGI-I was 2.83 + 0.72, showing a positive effect of Kubiker[1] in the control of urinary symptoms. Indeed, this value reflects a statistically significant number of answers "much better" and "little better" at the questionnaire, demonstrating a great satisfaction expressed by patients treated with this supplement. Besides, paired *t*-test used for the evaluation of *OBS* before and after the treatment showed a p-value < 0.001 (Table 2). The analysis of this questionnaire showed especially an improvement in the responses concerning the symptoms of urination urgency and urge incontinence, more marked than the responses concerning urinary frequency.

3. Discussion

Therapy with the oral supplement based on vitamins (C and D), cucurbita maxima, capsicum annum, polygonum cuspidatum and L-Glutammin, is effective in reducing urinary symptoms in women affected by OAB. The reasons are to be found in the composition of the product, whose constituents have been individually evaluated for their effect on urinary symptoms

From the review of Fattori et al. [19] emerged that capsaicin seems to have a protective effect against bladder disorders. An animal study demonstrated that the pretreatment with capsaicin (125 mg/kg, s.c.) was able to prevent spinal cord injury-induced hyperreflexia of the detrusor in rats. The effect of capsaicin is related to the action on Transient Receptor Potential Vanilloid Type 1 (TRPV1) receptors in the urinary tract, not only in sensory fibers that innervate these structures but also in urothelial cells [20]. In vitro studies with bladder urothelial cells from non-neurogenic overactive bladder, patients showed that expression and activation of TRPV1, as well as capsaicin-sensitivity, are increased in comparison with healthy volunteers [21,22]. Capsaicin targeting of TRPV1 receptors in the C-fibers leads to the activation followed by desensitization, being responsible for the beneficial effect of capsaicin on the bladder activity, but also by the initial pain sensation due to their use [23]. Oral intake of capsaicin may have different effects or mechanisms from intravesical instillation or subcutaneous injection in treating human diseases. It is because the bioavailability of oral capsaicin is still controversial in different reports, particularly in the serum concentration of capsaicin. However, the use of capsaicin might be an alternative treatment for OAB patients, who do not tolerate conventional therapy.

Shim et al. investigated the efficacy and utility of Cucuflavone (tablets with a mixture of plant extracts 87.5 % Cucurbita pepo seeds and 12.5 % soy) in reducing OAB symptoms [24]. The final results of the investigation showed that urinary incontinence, the frequency of daily and nocturnal urination was statistically significantly reduced compared to the initial parameters. Nishimura et al. obtained similar results. They confirmed the efficacy of cucurbita maxima seeds oil on urinary disorders in OAB [25].

Glutamine is the most abundant amino acid in blood and the free amino acid pool of the human body. Besides its role as a constituent of proteins and its importance as a metabolic fuel, glutamine has nonnutritive effects, including regulation of the cellular redox balance, cell volume, glutathione metabolism, and attenuation of oxidative stress [26–29]. Several studies have shown that glutamine administration attenuates oxidative stress and protects against radiotherapy-induced bladder injury, especially concerning extracellular matrix volumetric density and collagen expression [30]. This represents an excellent prerequisite for the use of this molecule in the lower urinary tract irritation pathologies.

Table 1
Characteristics of the patients included in the study.

Characteristics of the patients	
Mean age (mean ± SD)	60.78 ± 21.35
Parity, median (range)	2 (0-6)
Menopausal status (%)	60 (71.5%)
BMI (Kg/m²)	27.5 ± 4.2
Previous gynaecological surgery (%)	2/84 (2.4%) Hysterectomy 6/84 (7.1%) Hysterectomy and ovariectomy 1/84 (1.2%) Cystopexy 2/84 (2.4%) Bilateral ovariectomy 1/84 (1.2%) Hysteroscopic metroplasty

Table 2
Results of OBS before and after 3 months of therapy.

	OBS before the therapy	OBS after 3 months	p-value
Kubiker supplementation N = 84	33.79 ± 4.9	23.14 ± 5.1	< 0.001

Data are presented as mean ± standard deviation. OBS (Overactive Bladder Screening).

Maserejian et al. in a cross-sectional analysis performed on intakes of vitamins and minerals about urinary complaints in women, found that women who had high-dose intake of vitamin C supplements were more likely to report storage symptoms of frequency and urgency, whereas vitamin C from food and beverages were inversely associated with voiding symptoms. Therefore vitamin C may contribute to LUTS in dose-dependent and symptom-specific ways and for some women, OAB symptoms of frequency and urgency could be ameliorated by the right intake of vitamin C [31].

Vitamin D has demonstrated to be effective in the treatment of urinary incontinence [32,33] and its deficiency has been associated with moderate-severe urinary incontinence and with the presence of LUTS [34,35].

Vitamin D is shown to be linked to OAB syndrome, which exacerbated by stress conditions. A cross-sectional analysis performed using the 20052006 National Health and Nutrition Examination Survey data about vitamin D and pelvic floor disorders in women, demonstrated how higher vitamin D levels were associated with decreased risk of pelvic floor disorders [36]. Vecchioli-Scaldazza et al. have performed a randomized, controlled trial comparing efficacy and safety of the same oral supplement versus Solifenacin succinate in women affected by OAB syndrome. In that study the dosage of the alternative medicine was different (2 tablets a day for 12 weeks). The results showed that the quality of life of patients evaluated with the OAB-q SF resulted in highly significant improvement in both Solifenacine and oral supplement groups. However, the oral supplement was significantly more effective in both items related to symptoms' quality of life. Patients' evaluation of thetwodifferenttreatmentsperformed at the end of the studyassessed with PGI-I demonstrated improvements in the two groups of patients with greater satisfaction expressed by patients treated with alternative medicine [16].

In our study we triedtoevaluate a differentdosage, with an attack dose therapy (2 tablets a day for 1 month) e a maintenance dose (1 tablet a day for 2 months): this choice was made especially to avoid affecting costs too much since one of the main reasons for low adherence to pharmacologic treatment is costs issues, as well as for the side effects. We have demonstrated that also with this dosage is possible to control urinary simpthoms in women affected by OAB.

All these observations lead us to think that a product containing these principles may represent a valid alternative in the treatment of overactive bladder, especially in all those conditions that contraindicate the pharmacological treatment (antimuscarinics or mirabegron). Our study shows that this supplement can improve the quality of life of patients with overactive bladder, guaranteeing a satisfactory degree of adherence to therapy, thanks to its tolerability and poor local effects. One of the main reasons for non- adherence to drug therapies lies in fact in the discontinuity for the substantial costs and the appearance of side effects.

1. Conclusions

This study has two main limitations: the open-label single-arm design which did not control for placebo effects and the small number of patients included in the analysis. Moreover, the retrospective analysis does not allow us to precisely evaluate the influence of any other measures taken by patients during the evaluation time (e.g. bladder training, dietary change and so on). Nevertheless, from these preliminary data, it is possible to conclude that the therapy with an oral supplement based on vitamins (C and D), cucurbita maxima, capsicum annum, polygonum cuspidatum, and L-Glutammin is a valid alternative to pharmacologic treatment of OAB syndrome, especially for those patients who have contraindications.

Further studies on a greater number of patients are needed to confirm these findings.

Ethical statement

All procedures performed in the study were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

Funding sources

No financial support was received for this study.there are no conflicts of interest.

CRediT authorship contribution statement

Annamaria Fabozzi: Conceptualization, Methodology, Writing - review & editing. Luigi Della Corte: Data curation, Formal analysis, Investigation, Writing - original draft. Carmen Formisano: Validation. Pierluigi Giampaolino: Writing - original draft. Carmine Nappi: Supervision. Giuseppe Bifulco: Project administration, Supervision.

Declaration of Competing Interest

Dr. Annamaria Fabozzi, Dr. Luigi Della Corte, Dr. Pierluigi Giampaolino, Dr. Carmen Formisano, Dr. Giuseppe Bifulco have no conflicts of interest or financial conflicts to disclose.

Acknowledgments

Statement of Ethics: Ethical approval was not required because this was classified as a hospital audit of current clinical practice. Nevertheless, all procedures involving human participants were in accordance with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

Appendix A. Supplementary data

Supplementarymaterialrelatedtothisarticlecan be found, in the online version, at doi:https://doi.org/10.1016/j.aimed.2020.05.003.

References

[1] P. Abrams, L. Cardozo, M. Fall, D. Griffiths, P. Rosier, U. Ulmsten, et al., The standardisation of terminology of lower urinary tract function: report from the standardisation sub-committee of the International Continence Society, Neurourol. Urodyn. 21 (2002) 167–178.
[2] H. Nakagawa, K. Niu, A. Hozawa, Y. Ikeda, Y. Kaiho, K. Ohmori-Matsuda, et al., Impact of nocturia on bone fracture and mortality in older individuals: a Japanese longitudinal cohort study, J. Urol. 184 (October (4)) (2010) 1413–1418.
[3] M. Franchi, S. Uccella, P.C. Zorzato, A. Dalle Carbonare, S. Garzon, A.S. Laganà, et al., Vaginal flap for urethral neomeatus reconstruction after radical surgery for vulvar cancer: a retrospective cohort analysis, Int. J. Gynecol. Cancer 29 (September(7)) (2019) 1098–1104.
[4] B. Peyronnet, E. Mironska, C. Chapple, L. Cardozo, M. Oelke, R. Dmochowski, et al., A comprehensive review of overactive bladder pathophysiology: on the way to tailored treatment, Eur. Urol. 75 (June (6)) (2019) 988–1000.
[5] E. Graham, T.C. Chai, Dysfunction of bladder urothelium and bladder urothelial cells in interstitial cystitis, Curr. Urol. Rep. 7 (November (6)) (2006) 440–446.
[6] S.K. Keay, L.A. Birder, T.C. Chai, Evidence for bladder urothelial pathophysiology in functional bladder disorders, Biomed Res. Int. 2014 (2014)865463.
[7] A. Kanai, C. Fry, Y. Ikeda, F.A. Kullmann, B. Parsons, L. Birder, Implications for bidirectional signaling between afferent nerves and urothelial cells-ICI-RS 2014, Neurourol. Urodyn. 35 (February (2)) (2016) 273–277.
[8] S.S. Patnaik, A.S. Laganà, S.G. Vitale, S. Butticè, M. Noventa, S. Gizzo, G. Valenti, A.M.C. Rapisarda, V.L. La Rosa, C. Magno, O. Triolo, V. Dandolu, Etiology, pathophysiology and biomarkers of interstitial cystitis/painful bladder syndrome, Arch. Gynecol. Obstet. 295 (June (6)) (2017) 1341–1359

[1] L. Grundy, A. Caldwell, S.M. Brierley, Mechanisms underlying overactive bladder and interstitial cystitis/painful bladder syndrome, Front. Neurosci. 12 (December (12)) (2018) 931.
[2] J. Kruppa, T. Kavvadias, S. Amann, K. Baessler, B. Schuessler, Short and long-term urodynamic and quality of life assessment after nerve sparing radical hysterectomy: a prospective pilot study, Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 201 (June) (2016) 131–134.
[3] K.S.1 Coyne, C.C. Sexton, D.E. Irwin, Z.S. Kopp, C.J. Kelleher, I. Milsom, The impact of overactive bladder, incontinence and other lower urinary tract symptoms on quality of life, work productivity, sexuality and emotional well-being in men and women: results from the EPIC study, BJU Int. 101 (June (11)) (2008) 1388–1395.
[4] K.E. Andersson, C.R. Chapple, L. Cardozo, F. Cruz, H. Hashim, M.C. Michel, et al., Pharmacological treatment of overactive bladder: report from the International Consultation on Incontinence, Curr. Opin. Urol. 19 (July(4)) (2009) 380–394.
[5] Y.F. Yu, M.B. Nichol, A.P. Yu, J. Ahn, Persistence and adherence of medications for chronic overactive bladder/urinary incontinence in the California medical Program, Value Health 4 (2005) 495–505.
[6] V.L. La Rosa, T. Duarte de Campos da Silva, A. Rosa de Oliveira, T. Marques Cerentini, P. Viana da Rosa, L.H. Telles da Rosa, Behavioral therapy versus drug therapy in individuals with idiopathic overactive bladder: a systematic review and meta-analysis, J. Health Psychol. 25 (April (5)) (2020) 573–585.
[7] Y.L. Liu, W.C. Lee, Traditional chinese medicine and herbal supplements for treating overactive bladder, Urol. Sci. 29 (2018) 216–222.
[8] C. Vecchioli-Scaldazza, C. Morosetti, S. Maruccia, S. Casellato, W. Rociola, E. Illiano, et al., A randomized, multicenter, controlled study, comparing efficacy and safety of a new complementary and alternative medicine (CAM) versus Solifenacin Succinate in women with overactive bladder syndrome, Arch. Ital. Urol. Androl. 89 (December (4)) (2017) 296–300.
[9] C. Acquadro, Z. Kopp, K.S. Coyne, J. Corcos, A. Tubaro, M.S. Choo, et al., Translating overactive bladder questionnaires in 14 languages, Urology 67 (March(3)) (2006) 536–540.
[10] Dg Tincello, Rk Owen, Mc Slack, Kr Abrams, Validation of the Patient Global Impression scales for use in detrusor overactivity: secondary analysis of the RELAX study, BJOG 120 (January (2)) (2013) 212–216.
[11] V. Fattori, M.S. Hohmann, A.C. Rossaneis, F.A. Pinho-Ribeiro, W.A. Verri, Capsaicin: current understanding of its mechanisms and therapy of pain and other pre-clinical and clinical uses, Molecules 21 (June(7)) (2016).
[12] W. Everaerts, T. Gevaert, B. Nilius, D. De Ridder, On the origin of bladder sensing: trips in urology, Neurourol. Urodyn. 27 (2008) 264–273.
[13] M. Li, Y. Sun, J.M. Simard, T.C. Chai, Increased transient receptor potential vanilloid type 1 (TRPV1) signaling in idiopathic overactive bladder urothelial cells, Neurourol. Urodyn. 30 (April (4)) (2011) 606–611.
[14] L.A. Birder, A.S. Wolf-Johnston, Y. Sun, T.C. Chai, Alteration in TRPV1 and Muscarinic (M3) receptor expression and function in idiopathic overactive bladder urothelial cells, Acta Physiol. (Oxf) 207 (January (1)) (2013) 123–129.
[15] H.E. Foster Jr., A.G. Lake, Use of vanilloids in urologic disorders, Prog. Drug Res. 68 (2014) 307–317.
[16] B. Shim, H. Jeong, S. Lee, S. Hwang, B. Moon, C. Storni, A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial of a product containing pumpkin seed extract and soy germ extract to improve overactive bladder-related voiding dysfunction and quality of life, J. Funct. Foods 8 (2014) 111–117.
[17] M. Nishimura, T. Ohkawara, H. Sato, H. Takeda, J. Nishihira, Pumpkin seed oil extracted from Cucurbita maxima improves urinary disorder in human overactive bladder, J. Tradit. Complement. Med. 4 (January (1)) (2014) 72–74.
[18] J.M. Matés, C. Pérez-Gómez, I. Núñez de Castro, M. Asenjo, J. Márquez, Glutamine and its relationship with intracellular redox status, oxidative stress and cell proliferation/death, Int. J. Biochem. Cell Biol. 34 (May (5)) (2002) 439–458.
[19] D.K. Heyland, R. Dhaliwal, A.G. Day, J. Muscedere, J. Drover, U. Suchner, et al., REducing Deaths due to OXidative Stress (the REDOXS Study): rationale and study design for a randomized trial of glutamine and antioxidant supplementation in critically-ill patients, Proc. Nutr. Soc. 65 (August (3)) (2006) 250–263.
[20] M. Kul, S. Vurucu, E. Demirkaya, T. Tunc, S. Aydinoz, C. Meral, et al., Enteral glutamine and/or arginine supplementation have favorable effects on oxidative stress parameters in neonatal rat intestine, J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 49 (2009) 85–89.
[21] B.R. Rocha, F.M. Gombar, L.M. Barcellos, W.S. Costa, F.J. Barcellos Sampaio, C.F. Ramos, Glutamine supplementation prevents collagen expression damage in healthy urinary bladder caused by radiotherapy, Nutrition 27 (July-August (7-8)) (2011) 809–815.
[22] H. Shimura, T. Mitsui, S. Kira, T. Ihara, N. Sawada, H. Nakagomi, et al., Metabolomic analysis of overactive bladder in male patients: identification of potential metabolite biomarkers, Urology 118 (August) (2018) 158–163.
[23] N.N. Maserejian, C.G. Wager, E.L. Giovannucci, T.M. Curto, K.T. McVary, J.B. McKinlay, Intake of caffeinated, carbonated, or citrus beverage types and development of lower urinary tract symptoms in men and women, Am. J. Epidemiol. 177 (2013) 1399–1410.
[24] J. Oberg, M. Verelst, R. Jorde, K. Cashman, G. Grimnes, High dose vitamin D may improve lower urinary tract symptoms in postmenopausal women, J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 173 (October) (2017) 28–32.
[25] J.T. Gau, Urinary incontinence resolved after adequate vitamin D supplementation: a report of two cases, J. Am. Geriatric Soc. 58 (2010) 2438–2439.
[26] C.P. Vaughan, T.M. Johnson 2nd, P.S. Goode, D.T. Redden, K.L. Burgio, A.D. Markland, Vitamin D and lower urinary tract symptoms among US men: results from the 2005-2006 National Health and Nutrition Examination Survey, Urology 78 (December (6)) (2011) 1292–1297.
[27] M.A. Elshazly, M.F. Sultan, H.A. Aboutaleb, S.M. Salem, M.S. Aziz, T.M. Abd Elbaky, et al., Vitamin D defiency and lower urinary tract symptoms in males above 50 years of age, Urol. Ann. 9 (2017) 170–173.
S.S. Badalian, P.F. Rosenbaum, Vitamin D and pelvic floor disorders in women: results from the National mHealth and Nutrition Examination Survet, Obstet. Gynecol. 115 (2010) 795–803

6 BIBLIOGRAFIA

1. International Continence Society (ICS). http//www.icsoffice.org/
2. AA. VV. “Incontinence” Proc. 2 WHO Consultation on Incontinence (2 ed) 2004 Health Publication Ltd. Plymouth
3. Cerruto MA, D’Elia C, Aloisi A, Fabrello M, Artibani W.: Prevalence, incidence and obstetric factors’ impact of female urinary incontinence in Europe: a systematic review. Urol. Int. 2013; 90:1-9
4. EAU Guidelines on Urinary Incontinence in Adults, 2011
5. Bernasconi F, Grasso M, Mantovani C, Lucchini E, Arienti S and Cerri C, Social cost of female urinary incontinence: Epidemiology, costs of illness and cost/effectivness analysis, Urogynaecologia International Journal 2003; 17:9-42
6. Portman DJ, Gass ML; Vulvovaginal Atrophy Terminology Consensus Conference Panel. Genitourinary syndrome of menopause: new terminology for vulvovaginal atrophy from the International Society for the Study of Women's Sexual Health and the North American Menopause Society. Menopause. 2014 Oct;21(10):1063-8.
7. Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, et al. Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. JAMA 2002, 288: 321-33
8. Nappi RE, Palacios S, Panay N, Particco M, Krychman ML.Vulvar and vaginal atrophy in four European countries: evidence from the European REVIVE Survey. Climacteric. 2016 Apr;19(2):188-97.
9. Labrie F, Archer DF, Koltun W, Vachon A, Young D, Frenette L, Portman D, Montesino M, Côté I, Parent J, Lavoie L, BSc AB, Martel C, Vaillancourt

M, Balser J, Moyneur É; members of the VVA Prasterone Research Group. Efficacy of intravaginal dehydroepiandrosterone (DHEA) on moderate to severe dyspareunia and vaginal dryness, symptoms of vulvovaginal atrophy, and of the genitourinary syndrome of menopause. Menopause. 2018 Nov;25(11):1339-1353

10. Pescetto G. Ginecologia e ostetricia. Vol 2. V edizione Roma: SEU; 2017
11. Campeau L, Gorbachinsky I, Badlani GH, Andersson KE. Pelvic floor disorders: linking genetic risk factors to biochemical changes. BJU Int. 2011; 108: 1240-7.
12. De Lancey JO. Why do women have stress urinary incontinence? Neurourol Urodyn. 2010; 29 Suppl 1: S13-7
13. Deng DY. Urinary incontinence in women. Med Clin North Am. 2011; 95: 101-9
14. Fritel X, Ringa V, Quiboeuf E, Fauconnier A. Female urinary incontinence, from pregnancy to menopause: a review of epidemiological and pathophysiological findings. Acta Obstet Gynecol Scand. 2012; 91: 901-10.
15. Hijaz A, Sadeghi Z, Byrne L, Hou JC, Daneshgari F. Advanced maternal age as a risk factor for stress urinary incontinence: a review of the literature. Int Urogynecol J. 2012; 23: 395-401
16. Lukacz ES, Santiago-Lastra Y, Albo ME, Brubaker L. Urinary Incontinence in Women: A Review. JAMA. 2017 Oct 24;318(16):1592-1604.
17. Rahn DD, Carberry C, Sanses TV, Mamik MM, Ward RM, Meriwether KV, Olivera CK, Abed H, Balk EM, Murphy M; Society of Gynecologic Surgeons Systematic Review Group. Vaginal estrogen for genitourinary syndrome of menopause: a systematic review. Obstet Gynecol. 2014 Dec;124(6):1147-56.

18. The North American Menopause Society (NAMS). The 2020 genitourinary syndrome of menopause position statement of The North American Menopause Society. Menopause. 2020;27(9):976-992.
19. Calleja-Agius J, Brincat MP. The urogenital system and the menopause. Climacteric. 2015;18 Suppl 1:18-22.
20. Graziottin A. Vaginal biological and sexual health--the unmet needs. Climacteric. 2015;18 Suppl 1:9-12.
21. Angelou K, Grigoriadis T, Diakosavvas M, Zacharakis D, Athanasiou S. The Genitourinary Syndrome of Menopause: An Overview of the Recent Data. Cureus. 2020 Apr 8;12(4):e7586.
22. Gandhi J, Chen A, Dagur G, Suh Y, Smith N, Cali B, Khan SA. Genitourinary syndrome of menopause: an overview of clinical manifestations, pathophysiology, etiology, evaluation, and management. Am J Obstet Gynecol. 2016 Dec;215(6):704-711.
23. Palma F, Volpe A, Villa P, Cagnacci A; Writing group of AGATA study. Vaginal atrophy of women in postmenopause. Results from a multicentric observational study: The AGATA study. Maturitas. 2016 Jan;83:40-44.
24. Gold EB, Bromberger J, Crawford S, Samuels S, Greendale GA, Harlow SD, Skurnick J. Factors associated with age at natural menopause in a multiethnic sample of midlife women. Am J Epidemiol. 2001 May 1;153(9):865-74.
25. Harlow SD, Gass M, Hall JE, Lobo R, Maki P, Rebar RW, Sherman S, Sluss PM, de Villiers TJ; STRAW + 10 Collaborative Group. Executive summary of the Stages of Reproductive Aging Workshop + 10: addressing the unfinished agenda of staging reproductive aging. J Clin Endocrinol Metab. 2012 Apr;97(4):1159-68.
26. Mintziori G, Lambrinoudaki I, Goulis DG, Ceausu I, Depypere H, Erel CT, Pérez-López FR, Schenck-Gustafsson K, Simoncini T, Tremollieres F, Rees

M. EMAS position statement: Non-hormonal management of menopausal vasomotor symptoms. Maturitas. 2015 Jul;81(3):410-3.

27. Farrell Am E. Genitourinary syndrome of menopause. Aust Fam Physician. 2017;46(7):481-484.
28. Mitchell CM, Waetjen LE. Genitourinary Changes with Aging. Obstet Gynecol Clin North Am. 2018 Dec;45(4):737-750.
29. Sturdee DW, Panay N; International Menopause Society Writing Group. Recommendations for the management of postmenopausal vaginal atrophy. Climacteric. 2010 Dec;13(6):509-22.
30. Traish AM, Vignozzi L, Simon JA, Goldstein I, Kim NN. Role of Androgens in Female Genitourinary Tissue Structure and Function: Implications in the Genitourinary Syndrome of Menopause. Sex Med Rev. 2018 Oct;6(4):558-571.
31. Vegunta S, Kling JM, Kapoor E. Androgen Therapy in Women. J Womens Health (Larchmt). 2020 Jan;29(1):57-64.
32. Nappi RE, Particco M, Biglia N, Cagnacci A, Di Carlo C, Luisi S, Paoletti AM. Attitudes and perceptions towards vulvar and vaginal atrophy in Italian post-menopausal women: Evidence from the European REVIVE survey. Maturitas. 2016 Sep;91:74-80.
33. Palma F, Xholli A, Cagnacci A; as the writing group of the AGATA study. Management of vaginal atrophy: a real mess. Results from the AGATA study. Gynecol Endocrinol. 2017 Sep;33(9):702-707.
34. Palacios S, Mejía A, Neyro JL. Treatment of the genitourinary syndrome of menopause. Climacteric. 2015;18 Suppl 1:23-9.
35. Shifren JL. Genitourinary Syndrome of Menopause. Clin Obstet Gynecol. 2018 Sep;61(3):508-516
36. Jokar A, Davari T, Asadi N, Ahmadi F, Foruhari S. Comparison of the Hyaluronic Acid Vaginal Cream and Conjugated Estrogen Used in

Treatment of Vaginal Atrophy of Menopause Women: A Randomized Controlled Clinical Trial. Int J Community Based Nurs Midwifery. 2016 Jan;4(1):69-78.

37. Archer DF, Goldstein SR, Simon JA, Waldbaum AS, Sussman SA, Altomare C, Zhu J, Yoshida Y, Schaffer S, Soulban G. Efficacy and safety of ospemifene in postmenopausal women with moderate-to-severe vaginal dryness: a phase 3, randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial. Menopause. 2019 Jan 28;26(6):611-621.
38. Simon JA, Lin VH, Radovich C, Bachmann GA; Ospemifene Study Group. One-year long-term safety extension study of ospemifene for the treatment of vulvar and vaginal atrophy in postmenopausal women with a uterus. Menopause. 2013 Apr;20(4):418-27.
39. Schiavi MC, Di Pinto A, Sciuga V, Faiano P, Di Tucci C, D'oria O, Martoccia A, Prata G, Carraro C, Ostuni R, Zullo MA, Muzii L, Benedetti Panici P. Prevention of recurrent lower urinary tract infections in postmenopausal women with genitourinary syndrome: outcome after 6 months of treatment with ospemifene. Gynecol Endocrinol. 2018 Feb;34(2):140-143.
40. Komm BS, Mirkin S, Jenkins SN. Development of conjugated estrogens/bazedoxifene, the first tissue selective estrogen complex (TSEC) for management of menopausal hot flashes and postmenopausal bone loss. Steroids. 2014 Nov;90:71-81.
41. Salvatore S, Nappi RE, Zerbinati N, Calligaro A, Ferrero S, Origoni M, Candiani M, Leone Roberti Maggiore U. A 12-week treatment with fractional CO2 laser for vulvovaginal atrophy: a pilot study. Climacteric. 2014 Aug;17(4):363-9.

42. Salvatore S, Athanasiou S, Candiani M. The use of pulsed CO2 lasers for the treatment of vulvovaginal atrophy. Curr Opin Obstet Gynecol. 2015 Dec;27(6):504-8.
43. Vicariotto F, DE Seta F, Faoro V, Raichi M. Dynamic quadripolar radiofrequency treatment of vaginal laxity/menopausal vulvo-vaginal atrophy: 12-month efficacy and safety. Minerva Ginecol. 2017 Aug;69(4):342-349.
44. Bachmann G, Lobo RA, Gut R, Nachtigall L, Notelovitz M. Efficacy of low-dose estradiol vaginal tablets in the treatment of atrophic vaginitis: a randomized controlled trial. Obstet Gynecol. 2008 Jan;111(1):67-76.
45. Lethaby A, Ayeleke RO, Roberts H. Local oestrogen for vaginal atrophy in postmenopausal women. Cochrane Database Syst Rev. 2016 Aug 31;2016(8):CD001500.
46. Caruso S, Cianci S, Amore FF, Ventura B, Bambili E, Spadola S, Cianci A. Quality of life and sexual function of naturally postmenopausal women on an ultralow-concentration estriol vaginal gel. Menopause. 2016 Jan;23(1):47-54.
47. Del Pup L, Di Francia R, Cavaliere C, Facchini G, Giorda G, De Paoli P, Berretta M. Promestriene, a specific topic estrogen. Review of 40 years of vaginal atrophy treatment: is it safe even in cancer patients? Anticancer Drugs. 2013 Nov;24(10):989-98.
48. Labrie F, Bélanger A, Pelletier G, Martel C, Archer DF, Utian WH. Science of intracrinology in postmenopausal women. Menopause. 2017 Jun;24(6):702-712.
49. Tubaro A, Zattoni F, Prezioso D, Scarpa RM, Pesce F, Rizzi CA, Santini AM, Simoni L, Artibani W; Flow Study Group. Italian validation of the International Consultation on Incontinence Questionnaires. BJU Int. 2006 Jan;97(1):101-8.

50. McKown S, Abraham L, Coyne K, Gawlicki M, Piault E, Vats V. Linguistic validation of the N-QOL (ICIQ), OAB-q (ICIQ), PPBC, OAB-S and ICIQ-MLUTSsex questionnaires in 16 languages. Int J Clin Pract. 2010 Nov;64(12):1643-52.
51. Martel C, Labrie F, Archer DF, Ke Y, Gonthier R, Simard JN, Lavoie L, Vaillancourt M, Montesino M, Balser J, Moyneur É; other participating members of the Prasterone Clinical Research Group. Serum steroid concentrations remain within normal postmenopausal values in women receiving daily 6.5mg intravaginal prasterone for 12 weeks. J Steroid Biochem Mol Biol. 2016 May;159:142-53.
52. Portman DJ, Labrie F, Archer DF, Bouchard C, Cusan L, Girard G, Ayotte N, Koltun W, Blouin F, Young D, Wade A, Martel C, Dubé R; other participating members of VVA Prasterone Group. Lack of effect of intravaginal dehydroepiandrosterone (DHEA, prasterone) on the endometrium in postmenopausal women. Menopause. 2015 Dec;22(12):1289-95.
53. Labrie F. Intracrinology. Mol Cell Endocrinol. 1991 Jul;78(3):C113-8.
54. Labrie F, Luu-The V, Labrie C, Bélanger A, Simard J, Lin SX, Pelletier G. Endocrine and intracrine sources of androgens in women: inhibition of breast cancer and other roles of androgens and their precursor dehydroepiandrosterone. Endocr Rev. 2003 Apr;24(2):152-82.
55. Labrie F. Dhea after menopause Sole source of sex steroids and potential sex steroid deficiency treatment. Menopause Management. 2010 March/April:14-24.
56. Labrie F, Be´langer A, Cusan L, Gomez JL, Candas B. Marked decline in serum concentrations of adrenal C19 sex steroid precursors and conjugated androgen metabolites during aging. J Clin Endocrinol Metab 1997;82:2396-2402.

57. Chakraborty TR, Gore AC. Aging-related changes in ovarian hormones, their receptors, and neuroendocrine function. Exp Biol Med (Maywood) 2004;229:977-987.
58. Labrie F, Archer DF, Bouchard C, et al. Intravaginal dehydroepiandrosterone (Prasterone) a physiological and highly efficient treatment of vaginal atrophy. Menopause 2009;16:907-922
59. Berger L, El-Alfy M, Martel C, Labrie F. Effects of dehydroepiandrosterone, Premarin and Acolbifene on histomorphology and sex steroid receptors in the rat vagina. J Steroid Biochem Mol Biol 2005;96:201-215.
60. Labrie F, Cusan L, Gomez JL, et al. Effect of intravaginal DHEA on serum DHEA and eleven of its metabolites in postmenopausal women. J Steroid Biochem Mol Biol 2008;111:178-194
61. Montesino M, Labrie F, Archer DF, Zerhouni J, Côté I, Lavoie L, Beauregard A, Martel C, Vaillancourt M, Moyneur E, Balser J. Evaluation of the acceptability of intravaginal prasterone ovule administration using an applicator. Gynecol Endocrinol. 2016;32(3):240-5