

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI MILANO



**DOTTORATO DI RICERCA IN
SCIENZE FISIOPATOLOGICHE, NEUROPSICOBIOLOGICHE E
ASSISTENZIALI DEL CICLO DELLA VITA**

CICLO XXVIII°

**Effetti anti-neuroinfiammatori di un preparato a base di Acido
alfa-lipoico ed Acidi grassi polinsaturi omega 3 (DHA ed EPA)
nella terapia della vestibolodinia**

Coordinatore del Dottorato: Chiar.mo Prof. L. PINOTTI

Tutor: Chiar.mo Prof. E. FERRAZZI

Supervisore: Dr. F. MURINA

Tesi di Dottorato di:

Dr.ssa STEFANIA DI FRANCESCO

Matr. Nr. R09953

**Anno accademico
2016-2017**

A Cesare e alla piccola Vittoria

INDICE

INTRODUZIONE

LA VULVODINIA

Epidemiologia

Eziopatogenesi

Trigger Factors

Implicazioni psicologiche

Comorbidità

Ipertono del pavimento pelvico

Diagnosi

Terapia

ACIDO ALFA LIPOICO

Scoperta e prime indicazioni

Sintesi, assorbimento, biodisponibilità e dosaggio

Proprietà antiossidanti e antinfiammatorie dell'Acido alfa lipoico e sua azione nel metabolismo energetico cellulare

Acido alfa-lipoico e dolore

L'acido alfa lipoico nella terapia multimodale del dolore cronico

ACIDI GRASSI POLINSATURI OMEGA 3

Omega 3 e regolazione del processo infiammatorio

Omega 3 e dolore

SCOPO DELLO STUDIO

MATERIALI E METODI

RISULTATI

DISCUSSIONE

BIBLIOGRAFIA

INTRODUZIONE

LA VULVODINIA

Il termine vulvodinia, secondo la nuova classificazione del 2015 formulata da un “consensus statement “ dell’International Society for the Study of Vulvovaginal disease (ISSVD), dell’International Society for the Study of Women’s Sexual Health e dell’International Pelvic Pain Society, definisce un dolore vulvare della durata superiore a 3 mesi, senza alcuna causa identificabile (Bornstein J, 2016).

La nuova classificazione distingue il dolore vulvare provocato da cause specifiche (infettive, infiammatorie, neoplastiche, neurologiche, traumatiche, iatrogene, ormonali) dalla vulvodinia (Bornstein J, 2016.)

La vulvodinia viene classificata in relazione alla sede del dolore e alle caratteristiche d’insorgenza dei disturbi (Bornstein J, 2016). Si distingue una forma localizzata, dove i sintomi sono presenti in una zona circoscritta della regione vulvare e una forma generalizzata, dove il dolore può interessare anche gran parte della regione vulvare, perineo e zona anale compresa.

La forma localizzata è in assoluto la più frequente. A seconda della sede di localizzazione del dolore, distinguiamo la vestibolodinia, che interessa l’ 80% delle pazienti, in cui il dolore è concentrato a livello del vestibolo vulvare e forme molto più rare come la clitoridodinia, in cui il dolore è concentrato a livello clitorideo o l’uretrodinia in cui il dolore interessa l’uretra.

Quando i disturbi sono evocati da una stimolazione, quale un contatto, sfregamento, trauma o penetrazione vaginale, si parla di vulvodinia provocata. Nelle pazienti invece in cui i sintomi sono quasi sempre presenti, indipendentemente dalla stimolazione, si parla di vulvodinia spontanea. Talora componenti diverse di vulvodinia possono sovrapporsi, ma nella pratica clinica si evidenziano due forme principali: la vestibolodinia prevalentemente provocata, in assoluto la variante più frequente e la vulvodinia generalizzata spontanea (Moyal-Barracco M, 2003). La vulvodinia si può manifestare in maniera cronica, continua, intermittente o episodica (fase premenstruale). Si definisce primaria quando si manifesta fin dai primi episodi di penetrazione vaginale, dovuti all’inizio dell’attività sessuale, ma anche all’utilizzo di assorbenti interni. La forma secondaria invece compare dopo un periodo di rapporti sessuali privi di dolore (LeClair CM, 2011).

La nuova classificazione evidenzia la complessità della presentazione clinica e dell’eziopatologia della vulvodinia ed inoltre approfondisce le possibili patologie

associate (comorbidità) a carico di altri organi e apparati (sindrome della vescica dolorosa / cistite interstiziale, fibromialgia, sindrome dell'intestino irritabile, disturbo temporo-mandibolare), nonché una serie di variabili potenzialmente associate al dolore vulvare (genetiche, ormonali, infiammatorie, muscoloscheletriche, neurologiche, psicosociali, strutturali), importanti per meglio definire l'approccio terapeutico specifico per ogni singola paziente. (Bornstein J, 2016).

Epidemiologia

La vulvodinia non è un disturbo raro, presenta infatti una prevalenza del 10-28% nelle donne in età fertile. Uno studio pubblicato da Harlow et al evidenzia come l' 8% delle donne tra 18 e 40 anni riferisce un' anamnesi positiva per bruciore e dolore vulvare della durata maggiore di 3 mesi che limita o impedisce i rapporti sessuali (Harlow BL, 2003; Pukall CF, 2016)

Questi dati sono molto probabilmente sottostimati (Harlow BL, 2003). Molti medici infatti ritengono che il problema sia di natura psicologica e lo considerano relativamente poco importante, mentre alcune donne sono riluttanti a parlarne al ginecologo. Questi fattori sono spesso causa di ritardi diagnostici e terapeutici con conseguente rischio di peggioramento della sintomatologia clinica.

E' stimato che 14 milioni di donne nella loro vita soffrano di questa patologia e ciò comporta 14 milioni di visite mediche ogni anno (Arnold LD, 2007) con un relativo enorme peso economico sia per le pazienti che per la società (Xie Y, 2012).

Eziopatogenesi

La vulvodinia è una sindrome complessa, la cui eziologia rimane ad oggi non del tutto chiara; tuttavia diverse linee di ricerca suggeriscono l'ipotesi di una eziopatogenesi neuropatica di tipo multifattoriale (Farage MA, 2005). Si definisce "neuropatico" il dolore determinato da una lesione primaria o da una disfunzione del sistema nervoso. Sotto il profilo clinico, il dolore neuropatico è caratterizzato da due processi sensoriali anomali, detti "iperalgisia" e "allodinia". L'"iperalgisia" è una risposta amplificata a uno stimolo doloroso in sé normale, dovuta ad una moltiplicazione delle fibre del dolore. L'"allodinia" è invece il viraggio della percezione dello stimolo da tattile a doloroso dovuta alla dislocazione delle fibre del dolore, che si superficializzano verso

gli strati superficiali della mucosa. Le pazienti affette da vulvodinia manifestano entrambi questi elementi (Wesselmann U, 2014.)

I meccanismi che possono condurre all'instaurarsi della vulvodinia possono essere così schematizzati:

- *Fattori d'innescio o trigger factors*
- *Infiammazione neurogenica*
- *Sensibilizzazione periferica e centrale*

Stimoli infettivi, fisici, chimici e meccanici causano infiammazione attraverso l'attivazione di cellule del sistema immunitario come macrofagi, mastociti, cellule T e neutrofili. In particolare l'attivazione dei mastociti residenti provoca la loro degranolazione, con conseguente liberazione dei mediatori infiammatori contenuti nel loro citoplasma, quali il Nerve Growth Factor (NGF), il fattore di necrosi tumorale (TNF), le proteasi, H⁺, citochine proinfiammatorie (TNF- α , IL-1 β , IL-6), e chemochine proinfiammatorie (CCL2, CXCL1, CXCL5). L'NGF a sua volta aumenta la proliferazione e la degranolazione dei mastociti amplificando la risposta infiammatoria. In questo contesto i neuroni nocicettivi esprimono i recettori per tutti questi mediatori infiammatori, che agiscono sui recettori delle fibre nervose nocicettive periferiche determinando la sensibilizzazione degli assoni sensoriali afferenti (Ventolini G, 2013). Questi recettori includono i recettori accoppiati alla proteina G (GPCR), i recettori ionotropici e recettori a tirosin chinasi; la loro attivazione determina la generazione di un secondo messaggero come Ca²⁺ e cAMP, che a sua volta attiva molte chinasi, come PKA, PKC, CaMK, PI3K, e le MAP Kinasi (ERK, p38, e JNK). L'attivazione di queste chinasi causa ipersensibilità ed ipereccitabilità dei neuroni nocicettivi, attraverso la modulazione di molecole chiave di trasduzione come i canali ionici transient receptor potential A1 e V1 (TRPA1 e TRPV1) e canali del sodio NaV1.7, NaV1.8 e NaV1.9. (Pukall C F, 2016).

Alcune citochine e chemochine rilasciate da parte di macrofagi e mastociti attivati nel sito del danno tissutale sono in grado di agire in modo diretto sulla modulazione della trasduzione del segnale degli assoni nocicettori afferenti. In questo contesto un ruolo chiave è giocato dalle cellule della microglia (Omoigui, 2007). La microglia è composta dai macrofagi residenti nel sistema nervoso centrale. In seguito ad un'alterazione della normale omeostasi conseguente all'azione di patogeni o danno

tissutale, la microglia cambia rapidamente la propria morfologia, l'espressione di proteine sulla sua superficie e l'espressione genica; inoltre si ha un importante incremento del numero nelle cellule della microglia attraverso la migrazione e la proliferazione di queste cellule (Calvo M, 2012).

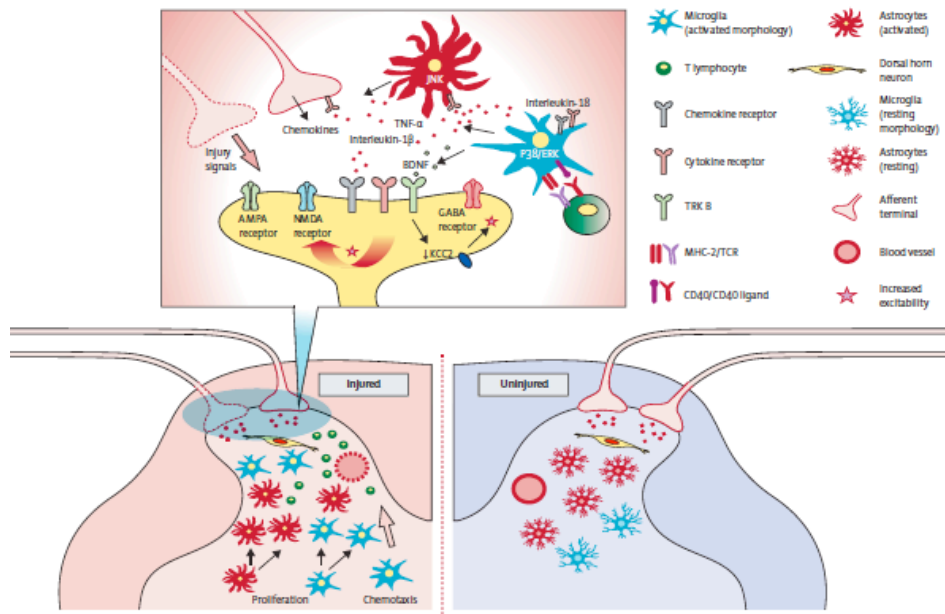


Fig.1 (Calvo M, 2012)

Lesioni a carico degli assoni nei nervi periferici portano ad una risposta immunitaria a carico del sistema nervoso centrale. In un modello sperimentale di danno a carico dei nervi periferici si verifica infatti un'intensa attivazione della microglia tra il corno dorsale del midollo spinale, ovvero dove terminano le fibre sensoriali afferenti dal sito di lesione, e il corno anteriore attorno ai nuclei dei motoneuroni lesionati. Le cellule della microglia attivate rilasciano molteplici molecole dell'infiammazione. Il rilascio di citochine da parte della microglia determina una sensibilizzazione centrale attraverso differenti meccanismi. TNF-alfa amplifica le correnti eccitatorie indotte dal glutammato; IL 1 beta incrementa la trasmissione sinaptica eccitatoria e riduce le trasmissioni inibitorie. L'inibizione della risposta della microglia previene e blocca l'ipersensibilità indotta dal danno neuronale in modelli animali di dolore neuropatico. (Calvo M, 2012).

Questa sequenza di eventi è definita neuroinfiammazione, un processo infiammatorio "citochina-mediato" che può essere provocato da un danno tissutale e che coinvolge interazioni neuroimmunitarie che determinano l'attivazione di cellule immunitarie, di

cellule gliali e di neuroni che possono condurre ad uno stato di dolore disabilitante noto come dolore neuropatico.

L'attivazione neuronale mediata dal processo infiammatorio determina un'intensa proliferazione delle fibre nervose C (Tympanidis P, 2003). Studi su dei campioni di biopsie vestibolari eseguito su pazienti con vestibolodinia e controlli sani hanno evidenziato una densità di terminazioni nervose 10 volte maggiore nelle pazienti con vestibolodinia rispetto ai controlli; l'incremento dell'innervazione ha un importante implicazione per quanto concerne l'aumento della sensibilità che è tipica della vulvodinia (Ghizzani G, 2016)

Un danno alla terminazione libera del nervo determina modificazioni strutturali e funzionali, sia sulla parte danneggiata del nervo sia sulla parte illesa, che aumentano il "cross-talk" fra nervi contigui e amplificano ulteriormente questo effetto. Il processo infiammatorio ha un ruolo centrale nello sviluppo di questa sensibilizzazione periferica.

Stimoli ripetuti da parte delle fibre C provocano una maggior risposta a livello midollare, provocando un processo di sensibilizzazione centrale che implica un aumento del campo recettivo dei nocicettori, una risposta più intensa e duratura agli stimoli algici e un abbassamento della soglia di stimolazione dei nocicettori stessi. Il dolore viene percepito solo se l'attività elettrica che lo sottende raggiunge il cervello (Zhang Z, 2011). Il corno dorsale del midollo spinale ricopre un ruolo chiave nella modulazione del dolore e nello sviluppo degli stati dolorosi cronici. Le sue lamine IV e V contengono un neurone particolare, chiamato "Wide Dynamic Range" (WDR), che trasmette una risposta centrale maggiore a stimoli ripetuti da parte delle fibre C. In tal modo, l'output corrispondente a un determinato input risulta amplificato, un processo noto come "caricamento" ("wind up") che, a sua volta, è parte del processo di sensibilizzazione centrale. Ogni modulazione o alterazione che avvenga all'interno del corno dorsale, ai vari livelli del midollo spinale, può avere un profondo effetto sulla sensazione algica. Il funzionamento corticale ha componenti deputate alla localizzazione del dolore, all'elaborazione delle emozioni ad esso correlate ed alla memorizzazione dell'esperienza risultante. Il controllo di modulazione discendente è bidirezionale e collega la corteccia cerebrale al corno dorsale, operando direttamente con afferenti primari, o indirettamente attraverso gli interneuroni inibitori ed eccitatori. Nella vestibolodinia si ha un'elevata risposta nella corteccia cerebrale insulare in seguito a stimolo tattile. Studi di imaging del cervello umano hanno

evidenziato come gli stimoli tattili non dolorosi attivino la parte postero-mediale della corteccia insulare, mentre la stimolazione dolorosa come pure la reazione anticipatoria al dolore attivano aree anteriori della medesima parte del cervello (Casey KL, 1996; Seifert F 2009). L'utilizzo della risonanza magnetica funzionale, tecnica di imaging che è in grado di valutare in tempo reale l'attività del sistema nervoso centrale, ha reso evidente come la percezione vestibolare dolorosa al tatto, elemento cardine della vestibolodinia, attivi sia la parte anteriore che quella postero-mediale della corteccia insulare (Pukall C F, 2005). Ciò dimostra come la percezione anomala vestibolare nelle donne con vestibolodinia abbia un correlato di iperattivazione e regolazione di aree cerebrali che solitamente non sono attivate dal semplice stimolo tattile. Tali aree sono inoltre rappresentative degli aspetti emozionali ed anticipatori del dolore. Questo incremento nella percezione di stimoli dolorosi, risultato di un'attivazione di aree neurali in modo anomalo rispetto ai controlli, viene definito con il termine di sensibilizzazione centrale.

Sia la sensibilizzazione centrale che quella periferica sembrano essere responsabili della perpetuazione dei sintomi anche dopo la rimozione del fattore scatenante il processo infiammatorio.

Trigger factors

Vi sono molteplici fattori che possono innescare il processo infiammatorio che porta alla vulvodinia, quali infezioni, prolungata esposizione a irritanti o ad allergeni, traumi, modificazioni ormonali. Il principale trigger factor è la candidosi vulvo-vaginale ricorrente, presente con elevata frequenza nelle pazienti con vestibolodinia (Nguyen RH, 2009). Si è osservato che queste pazienti presentano una ridotta capacità di tenere sotto controllo l'azione della *Candida albicans*, dovuta a un polimorfismo nel gene che codifica la Mannose-Binding Lectine (MBL), una proteina antimicrobica prodotta dal sistema immunitario (Babula O, 2004). E' stato dimostrato che le donne con vulvodinia reagiscono più frequentemente ai patch test per la *Candida albicans* e si è inoltre ipotizzato che l'esposizione alla *Candida albicans* a basse concentrazioni possa alterare il funzionamento dei neurotrasmettitori che influenzano l'ipersensibilità tattile e che sono abbondantemente presenti nel vestibolo vulvare (Ramirez De Knott HM, 2005). Si possono distinguere due forme di vulvo-vaginite da *Candida*. Una

forma acuta, più frequente, in cui la Candida presente in grande quantità, agisce mediante un'azione immunosoppressiva e si manifesta clinicamente con perdite biancastre, "a ricotta", inodori e con importante prurito e bruciore vulvovaginale. Una forma ciclico-recidivante più rara, in cui la Candida agisce in piccole quantità, mediante un'azione di ipersensibilità in pazienti geneticamente predisposte (circa il 10-15%), con una manifestazione clinica più lieve e con una ricorrenza di almeno 4 episodi l'anno (Graziottin A, 2010; Sobel JD, 2007).

In un recente studio in vitro Falsetta e collaboratori hanno valutato l'espressione di NF-kB in colture di fibroblasti ottenuti da biopsie vestibolari di donne affette da vestibolodinia e donne sane. E' stata valutata la differenza di espressione di NF-kB da parte dei fibroblasti dopo trattamento con lieviti. Si è riscontrata una maggior espressione di NF-kB nelle donne con vestibolodinia rispetto ai controlli. Inoltre i fibroblasti delle donne con vestibolodinia producevano una quantità di IL 6 e PGE2 5 volte maggiore delle donne sane. L'inibizione dell'espressione di NF-kB riduceva invece la produzione di queste molecole. Gli autori hanno dimostrato l'importanza della catena del segnale NF-kB nel processo proinfiammatorio mediato da IL6 e PGE2. La regolazione dell'espressione di NF-kB rappresenta quindi un possibile target per il trattamento della vulvodinia (Falsetta M L, 2015).

Secondo Falsetta i fibroblasti vestibolari di donne con vestibolodinia sono intrinsecamente sensibili anche a dosi molto basse di Candida albicans corrispondente al normale microbiota della donna. Le cellule vestibolari possiedono una memoria immunologica tanto che ripetute infezioni con Candida albicans predispongono queste cellule alla produzione di elevate quantità di mediatori dell'infiammazione anche quando l'infezione è rimossa (Falsetta M L, 2015).

Altri trigger factors sono di natura traumatica sul vestibolo, quali la diatermocoagulazione di condilomi floridi, le lacerazioni da parto, l'episiotomia e le relative riparazioni chirurgiche (Kennedy CM, 2009). Buhling KJ ha dimostrato infatti la persistenza di dispareunia a distanza di 6 mesi dal parto in donne che hanno affrontato un parto operativo vaginale o un'episiotomia paramediana, con una percentuale molto maggiore rispetto a donne con genitali integri dopo un parto vaginale (Buhling KJ, 2006).

Un ruolo molto importante è giocato dall'assetto ormonale. E' stato dimostrato infatti che gli estrogeni non solo hanno un'azione fondamentale nella determinazione del trofismo vaginale, ma anche che presentano un rapporto di proporzionalità inversa con l'innervazione del tratto genitale e l'ipersensibilità delle terminazioni nervose stesse. Questo comporta che, in condizioni di ipoestrogenismo quali la menopausa o il puerperio, ci sia un aumentato rischio, in soggetti predisposti, di sviluppo o esacerbazione della vulvodinia (Ting A Y, 2004). Anche Goetsch MF dimostra come in donne con vestibolodinia ci sia una ridotta espressione di recettori per gli estrogeni ed un incremento di recettori per gli androgeni rispetto ai controlli (Goetsch M F, 2010).

Non è chiaro se i contraccettivi orali (OC) giochino un ruolo nello sviluppo della vulvodinia. Alcuni ricercatori ritengono che l'uso di OC sia associato a un aumento del rischio di vestibolodinia (Bouchard C, 2002; Bohm-Starke N, 2004). Il rischio è maggiore quando l'uso di OC è corrente, di lungo termine (da almeno 2-4 anni), iniziato in giovane età e con i contraccettivi ad alto contenuto progestinico e basso contenuto estrogenico e androgenico (Bouchard C, 2002). L'autore suggerisce che il meccanismo con cui i contraccettivi orali aumentino questo rischio sia duplice. Da una parte possono provocare una down-regulation dei recettori estrogenici nel tessuto vulvo-vaginale con conseguente ridotta lubrificazione e alterazione della morfologia della mucosa vestibolare che appare più fragile, sottile e vulnerabile all'esposizione di irritanti esterni. Dall'altra gli ormoni steroidei possono agire sull'azione delle citochine proinfiammatorie favorendo il processo di infiammazione neurogenica (Bouchard C, 2002). Altri autori non hanno trovato questa correlazione (Lee M, 2011). Sino a quando questo effetto non sarà pienamente dimostrato, le donne non dovrebbero essere scoraggiate rispetto all'uso di OC, ma dovrebbero essere informate sul rischio di vestibolodinia.

Le evidenze più recenti suggeriscono la possibilità che le donne affette da vestibolodinia abbiano una predisposizione genetica all'infiammazione cronica: tale polimorfismo genetico implicherebbe una ridotta capacità di porre fine alla risposta infiammatoria, che anzi risulterebbe ulteriormente accentuata (Gerber S, 2003; Foster DC, 2004).

Implicazioni psicologiche

Molto importanti sono le implicazioni psicologiche che la vulvodinia può comportare. Alcuni studi mostrano che le donne con vulvodinia hanno meno rapporti, un minor desiderio sessuale e maggiori difficoltà a aggiungere l'orgasmo, e che, in molti casi, accettano di avere rapporti per senso del dovere piuttosto che per desiderio (Desrochers G, 2008). Si è osservato che le pazienti con vulvodinia presentano una maggiore incidenza di abusi fisici e sessuali, anche prolungati (Harlow BL, 2005). In considerazione dell'eziologia biologicamente dimostrata, attualmente la tesi più accreditata suggerisce che i disturbi sessuali e il distress psicologico siano la conseguenza, più che la causa della vulvodinia.

Sicuramente le problematiche psicologiche sono significativamente più frequenti nelle donne con vulvodinia rispetto a quelle asintomatiche. Numerosi studi indicano la presenza in queste pazienti di elevati livelli di ansia, sintomi depressivi, disturbi psicosomatici e sintomi ipocondriaci (Desrochers G, 2008). Indipendentemente dalla sequenza degli eventi, non c'è dubbio che fattori fisici e psicologici producano un continuum che interagisce con le molteplici dimensioni del dolore.

Comorbidità

La vulvodinia si associa spesso ad altre forme di dolore cronico, quali la cistite interstiziale, caratterizzata da urgenza e frequenza minzionale e spasmo della vescica, sindrome della vescica dolorosa, caratterizzata da un dolore cronico a livello vescicale con andamento di attacchi e remissioni, sindrome del colon irritabile, caratterizzato da dolore addominale, gonfiore e diarrea alternata a stipsi ed infine fibromialgia, una condizione che comprende dolori muscolari e disturbi del sonno. La frequente sovrapposizione con queste comorbidità può essere indicativa di anormali interazioni o riflessi neuronali, cosicché l'irritazione di un organo determina la parallela sensibilizzazione di altri (Pukall C F, 2016). La sovrapposizione fra questi disturbi è maggiore di quanto ci si aspetterebbe in base alle loro percentuali di prevalenza prese separatamente. Inoltre, le pazienti con più di una patologia presentano sintomi più gravi, una più elevata incidenza di disturbi psicopatologici e una qualità di vita complessivamente più bassa di quelle con una sola patologia.

Iper tono del pavimento pelvico

Nelle pazienti con vestibolodinia sovente si evidenzia una situazione di ipercontrattilità della muscolatura del pavimento pelvico (ipertono) (Glazer HI, 1998). L'80-90% di queste presentano almeno 3 dei seguenti aspetti in EMG: instabilità della muscolatura pelvica, scarso recupero dopo contrattura, elevata contrattura di base, ridotta frequenza e forza contrattile (Reissing ED, 2005). Non è ancora chiaro se l'alterazione muscolare sia primitiva o, più verosimilmente, secondaria alla disfunzione neuropatica vestibolare. Si innesca così un circolo vizioso in cui il dolore vulvare produce uno spasmo del muscolo elevatore dell'ano e l'ipertono del pavimento pelvico contribuisce a sua volta al mantenimento del dolore. L'ampia sovrapposizione esistente tra i dendriti dei motoneuroni dell'elevatore dell'ano e i motoneuroni del nervo pudendo determina un'ampia possibilità di interazione fra le fibre nervose sensoriali e motorie che controllano il muscolo elevatore dell'ano, la vulva e il vestibolo. Ciò che conta non è chi dà inizio al processo (se il muscolo o il nervo), ma come l'alterazione dei muscoli pelvici sia responsabile della gravità dei sintomi.

Diagnosi

La diagnosi di vulvodinia è di fatto d'esclusione, ossia prima di definire questa malattia è necessario che un'accurata valutazione vulvologica escluda ogni patologia che possa essere responsabile della sintomatologia propria della vulvodinia, ma con origini differenti (es. infezioni, dermatosi, neoplasie, etc.). L'esame ispettivo vulvare risulta nella maggior parte dei casi nella norma. Una valutazione diagnostica essenziale è rappresentata dall'ipersensibilità alla pressione vestibolare con l'apice di un cotton, definito Swab-test (Foster DC, 2009). Il test consiste nel toccare con l'apice di un cotton del vestibolo vaginale, diviso arbitrariamente in 6 posizioni, facendo riferimento ad un ideale quadrante d'orologio: tra l'1 e le 3, tra le 3 e le 6; le 6, tra le 6 e le 9, tra le 9 e le 12 e le 12 (Fig.2 e 3). La gravità della percezione dolorosa viene stabilita in relazione ad uno score da 0 a 3 (0=no dolore; 1=lieve fastidio; 2=fastidio moderato; 3=dolore intenso). Nelle donne con vestibolodinia il dolore è maggiore nel vestibolo posteriore fra i punti corrispondenti alle 5 e alle 7. Lo Swab-test è stato

validato come strumento diagnostico utile a identificare l'esatta localizzazione del dolore e a consentire alla paziente di distinguere i punti dove il dolore stesso è lieve, moderato o severo; la "mappa del dolore" così ottenuta è preziosa anche per tenere sotto controllo l'evoluzione del dolore nel tempo.



Fig.2



Fig.3

La valutazione clinica del pavimento pelvico inizia con la semplice osservazione dei muscoli durante le attività di contrazione e rilassamento. L'osservazione del perineo e dell'area introitale nella posizione litotomica dorsale durante l'esecuzione di una contrazione di Kegel (nella quale la donna contrae per 10 secondi i muscoli utilizzati per interrompere il flusso di urina, e poi li rilassa per altri 10 secondi), permette di notare che le pazienti con pavimento pelvico ipertonico spesso presentano una tale tensione muscolare "a riposo" da non riuscire a produrre ulteriore forza contrattile e realizzare quindi una vera contrazione. L'ipertono può essere evidenziato da un "perineo breve" o corto, convenzionalmente con una lunghezza inferiore ai 2 cm (Fig.4). A questo punto il medico, inserisce un dito lubrificato nella vagina per verificare la consapevolezza e la capacità di controllo dei muscoli del pavimento pelvico e la capacità di contrarre e rilassare il muscolo elevatore dell'ano (Fig.5)



Fig.4

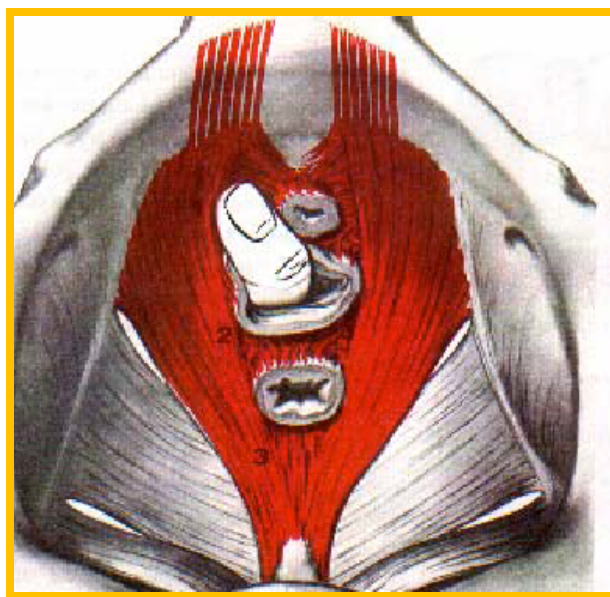


Fig.5

Lo strumento ritenuto più adeguato per valutare l'entità dell'ipertono è la "Scala di Marinoff" (Marinoff SC, 1992). Questa valutazione attribuisce uno score crescente di gravità alla dispareunia (0=assenza di ipertono, 1=ipertono lieve, 2=ipertono moderato, 3= Ipertono severo), identificando con lo score massimo le pazienti impossibilitate ad aver rapporti per intenso dolore alla penetrazione. Molte pazienti risulteranno presentare la massima dolorabilità lungo il bordo laterale del muscolo elevatore dell'ano, nel punto in cui il muscolo si inserisce sull'arco tendineo dell'elevatore. Un eventuale dolore, spontaneo o provocato, nel terzo inferiore della parete anteriore della vagina dovrebbe essere accuratamente approfondito, perché può associarsi a comorbilità vescicali (cistalgia, uretralgia, trigonite, cistite post-coitale, sindrome della vescica dolorosa/cistite interstiziale).

La vagina deve essere esaminata alla ricerca di possibili atrofie, ulcerazioni o perdite anormali. Le secrezioni, se presenti, vanno raccolte dalla parete vaginale laterale con un tampone ed analizzate con esame microscopico a fresco per evidenziare la presenza di eventuali infezioni.

Terapia

Essendo la vulvodinia una patologia ad eziologia multifattoriale con numerosi fattori predisponenti o scatenanti, non esiste un gold standard di cura, ma l'approccio

terapeutico deve essere multimodale, personalizzato e finalizzato a due target principali: il “reset” del sistema nocicettivo alterato e la riduzione dell’ipertono della muscolatura pelvica. Le linee guida d’intervento devono indirizzarsi verso la riduzione dei fattori scatenanti (trigger factors) e degli stimoli irritativi, il blocco della nocicezione periferica, l’inibizione centrale, il trattamento delle disfunzioni del pavimento pelvico associate e il trattamento delle implicazioni psicosessuali della sindrome dolorosa. Per prima cosa è fondamentale eliminare o ridurre i fattori scatenanti e gli stimoli irritativi quali infezioni e infiammazioni vulvovaginali, stimoli chimici locali (sapori, detergenti, idratanti intimi), stimoli fisici e ormonali e rapporti sessuali, che, facilitando la degranulazione mastocitaria, innescano il processo di infiammazione neurogenica.

Le pazienti devono adottare misure igienico-comportamentali preventive tese a minimizzare l’irritazione vulvare, quali utilizzare solo biancheria intima in cotone non colorato, indossare pantaloni comodi o gonne, evitare i collant, usare solo detergenti intimi approvati dermatologicamente e ginecologicamente, non avere rapporti con penetrazione fino alla risoluzione della vulvodinia, evitare le attività fisiche che possano esercitare una pressione diretta sulla vulva, come andare in bicicletta o a cavallo.

Protocolli di cura adeguati dell’infezione vulvovaginale da candida sono indispensabili per arginare il principale fattore scatenante. Il Fluconazolo alla dose di 200 mg, in schema posologico personalizzato, garantisce in elevata percentuale un controllo degli effetti dell’infezione micotica (Murina F, 2011). Fondamentale è trattare l’infezione e impedire l’insorgenza di recidive nella candidosi “ciclico-recidivante”. Per questo è stato stilato un protocollo che prevede la somministrazione Fluconazolo alla dose di 200 mg x 3 volte a settimana per la prima settimana, a seguire x 1 volta a settimana per le successive 4 settimane, a seguire x 1 volta dopo 10 giorni, dopo 15 giorni, dopo 20 giorni e dopo 30 giorni (Fig.6).

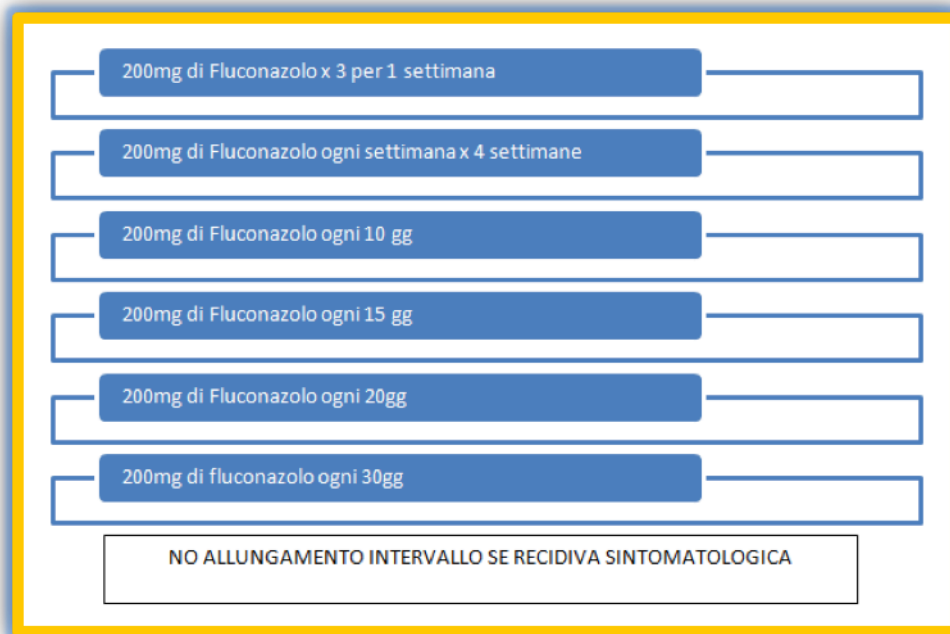


Fig.6

Gli antidepressivi triciclici costituiscono un'opzione farmacologica appropriata per il trattamento della vulvodinia, in particolare per il dolore spontaneo e generalizzato in cui si ha un tasso di risposta totale del 47% circa. Usata originariamente per la depressione, questa classe di farmaci è oggi comunemente prescritta per la cura del dolore cronico, e l'amitriptilina è, fra i triciclici, il principio più usato. Il razionale è che gli antidepressivi e, in particolare l'amitriptilina, hanno una potente azione anti-infiammatoria, probabilmente mediata da un'azione antagonista sulla degranolazione mastocitaria, cui si aggiunge un possibile effetto inibitorio sulla percezione del dolore di tipo centrale. La dose iniziale di amitriptilina deve essere bassa (6-10 mg) e va aumentata gradualmente sino a quando la paziente risponde alla cura o manifesta inaccettabili effetti collaterali quali stipsi, secchezza delle fauci, sedazione, incremento ponderale. Tale cura inoltre non può essere interrotta improvvisamente, ma va ridotta gradualmente per evitare effetti indesiderati. Tali effetti, in alcuni casi, possono influenzare a tal punto la compliance da causare interruzione della terapia (Reed B D, 2006).

Anche alcuni anticonvulsivanti sono utilizzati nel trattamento del dolore neuropatico. Tra questi il Gabapentin è il più studiato ed usato nel trattamento della vulvodinia. Il dosaggio iniziale è di 300 mg x os al giorno con un graduale incremento. Questo farmaco infatti richiede dosaggi via via più elevati per ottenere un aumento nella

concentrazione plasmatica e in alcuni casi gli elevati dosaggi possono peggiorare gli effetti collaterali dipendenti dalla dose, come le vertigini e la sonnolenza (Bornstein J, 2016).

Nella cura della vestibolodinia può essere utile, in pazienti selezionate, il ricorso a terapie iniettabili, con l'obiettivo di disattivare i trigger point mucosi, vestibolari, muscolari, presenti all'inserzione del muscolo elevatore sulla spina ischiatica e quindi di ridurre il dolore. Questo tipo di terapia, indicato soprattutto nelle forme di vestibolodinia localizzata, dovrebbe essere adottato in combinazione con altri approcci e come trattamento complementare o residuale. Sono state suggerite diverse combinazioni di farmaci, ma quelli che si sono dimostrate maggiormente efficaci sono i corticosteroidi in associazione agli anestetici locali e la tossina botulinica (Murina F, 2001) (Fig.7).



Fig.7

L'iniezione intramuscolare di tossina botulinica è massimamente indicata nelle forme di ipertono "miogeno", più frequenti nella vestibolodinia associata a dispareunia primaria, spesso sottesa da un vaginismo primario. L'azione primaria della neurotossina botulinica è la chemiodenervazione del muscolo tramite il blocco del rilascio presinaptico di acetilcolina alla giunzione neuromuscolare, con conseguente paralisi (reversibile) del muscolo stesso.

Il blocco del nervo pudendo è una tecnica utilizzabile nelle pazienti con vulvodinia generalizzata. Questa, che nasce per il trattamento della nevralgia genitale, è una

tecnica molto usata da neurologi e anestesisti. Le pazienti con nevralgia genitale tendono a localizzare i sintomi lungo la distribuzione del nervo e, non essendoci sostanziali differenze fra nevralgia genitale e vulvodinia generalizzata, può effettivamente costituire un'opzione terapeutica anche per quest'ultima. Il protocollo più seguito prevede l'uso di anestetici locali e talora di corticosteroidi a tre livelli, due a livello della spina ischiatica e uno a livello del canale di Alcock. Non c'è consenso sul numero massimo di blocchi nervosi che possono essere somministrati e, benché sia riportato un tasso di risposta di circa il 60%, gli effetti a lungo termine della terapia sono per ora sconosciuti. Sono stati descritti vari approcci al blocco del nervo pudendo attraverso vie diverse: transvaginale, transperineale e transgluteale. Il principale problema di questi approcci è che sono pericolosi per la paziente, perché sono tecniche di intervento "alla cieca" in una regione vascolare vicina all'intestino e alla vescica. Devono essere effettuati preferibilmente da anestesisti con grande esperienza nei blocchi tronculari. L'approccio può essere guidato da differenti tecniche di imaging, basate sulla fluoroscopia o sulla tomografia computerizzata. A causa dei potenziali effetti avversi, questa è da considerarsi indubbiamente una terapia di seconda scelta.

Il trattamento della vulvodinia può comprendere anche un approccio chirurgico. La vestibolectomia è un trattamento da riservare ad una classe selezionata di pazienti con vulvodinia locale provocata (vestibolodinia). L'escissione chirurgica del vestibolo può essere presa in considerazione in queste pazienti dopo che le altre opzioni mediche antalgiche, farmacologiche, riabilitative e di blocco del nervo pudendo, quindi non chirurgiche, sono state tentate senza successo. La procedura che dà i migliori risultati è la "vestibolectomia modificata", in cui vengono escisse una porzione del vestibolo a forma di ferro di cavallo e la piega delle piccole labbra, con successivo avanzamento della parete vaginale posteriore (Fig.8).

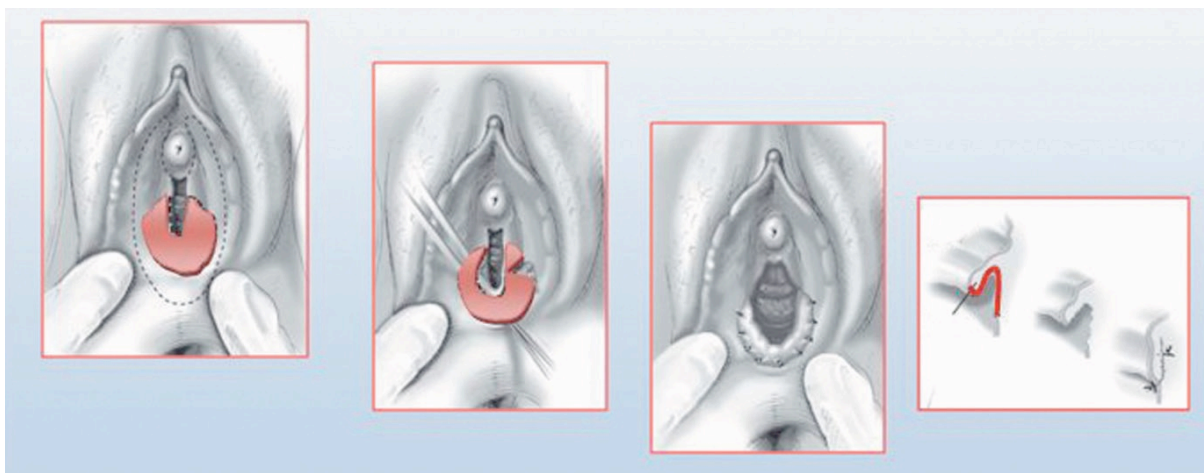


Fig.8

Alcuni studi che valutano il follow up a distanza di 3 anni dall'intervento, evidenziano come donne con vestibolodinia secondaria provocata presentino un importante beneficio o completa risoluzione della sintomatologia dolorosa pari al 35%-68% ed una parziale risoluzione pari al 24%-56%, mentre donne con vestibolodinia primaria non presentano grande beneficio (Bohm-Starke N, 2008; Andrews J C, 2011) . Tuttavia in letteratura non esiste un consenso unanime e la mancanza di studi randomizzati impone che la vestibulectomia sia da considerarsi una terapia di seconda scelta per la vestibolodinia provocata, in pazienti selezionate che non hanno risposto a precedenti terapie mediche (Tommola P, 2010).

Diverse tecniche si possono utilizzare per correggere l'ipertono della muscolatura pelvica. Queste comprendono esercizi di rilassamento, massaggio interno (vaginale) ed esterno, pressione sui trigger point, biofeedback elettromiografico e dilatatori vaginali (Polpeta , 2012). Spesso le pazienti non hanno "consapevolezza" dei loro muscoli pelvici: abituarsi a percepirne le tensioni durante la giornata è il primo passo per imparare a mantenerli rilassati. Queste tecniche sono utilizzate sia nel trattamento delle forme localizzate che generalizzate di vulvodinia e sono particolarmente utili per le pazienti che presentano concomitante vaginismo. Il biofeedback elettromiografico del pavimento pelvico, mediante una sonda intravaginale che emette una stimolazione elettrica, aiuta a sviluppare una strategia autoregolata in cui la donna può monitorare l'attività del muscolo elevatore dell'ano, imparando a contrarlo e rilassarlo. Questa tecnica, riducendo il dolore vulvare causato da ipertono e spasmi muscolari pelvici, ha dimostrato di essere molto utile nella ripresa dell'attività sessuale, con percentuali di successo del 65-70% (McKay E, 2001). Le tecniche manuali, tra cui rilassamento

miofasciale, rilassamento dei trigger point, mobilitazione dei tessuti molli e massaggi sono utili soprattutto per le pazienti con disturbi dolorosi miofasciali. Il lavoro può essere affiancato dall'addestramento all'uso di dilatatori vaginali per l'automassaggio. Anche il partner può essere addestrato in queste tecniche, in modo da poter aiutare la donna nella prosecuzione della terapia a casa. I dilatatori, in particolare, migliorano la propriocezione della muscolatura nelle fasi di contrazione e rilassamento; migliorando il controllo sull'entrata vaginale contribuiscono a ridurre l'ansia e la paura del dolore associati alla penetrazione. Aumentano il senso di controllo che la donna ha sull'evento che scatena il dolore, specie nella vestibulodinia provocata, associata quindi a dispareunia, e riducono la tendenza ad una contrazione difensiva involontaria che finirebbe per (ri)favorire microabrasioni e dolore (Fig.9).



Fig.9

La stimolazione nervosa elettrica transcutanea (Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation, TENS) è una tecnica che consente di effettuare una neuromodulazione attraverso uno stimolo elettrico erogato mediante una sonda intravaginale. Si è dimostrato che la TENS può essere significativamente utile nella cura della vestibolodinia (risposta positiva del 70% cca), ma è essenziale utilizzare parametri di stimolazione appropriati e validati (Murina F, 2008).

Recentemente è stato introdotto l'utilizzo del diazepam per via intravaginale, quale principio attivo ad azione miorilassante nei confronti di sindromi dolorose pelviche connotate da ipertono. L'effetto delle benzodiazepine è ben conosciuto, grazie alla loro proprietà miorilassante e antispastica, nel trattamento delle crisi epilettiche e dell'ipertono muscolare che le caratterizza. Le stesse vengono utilizzate per via rettale

anche nella cura della costipazione cronica, soprattutto nei pazienti in cui questa è attribuita alla dissinergia della muscolatura del pavimento pelvico (Heyman S, 2007). In uno studio retrospettivo Rogalski MJ ha dimostrato come l'utilizzo del diazepam per via vaginale in associazione ad esercizi di riabilitazione del pavimento pelvico comporti, in pazienti con ipertono della muscolatura pelvica, un miglioramento clinico significativo rispetto al solo utilizzo di terapie fisiche riabilitative (Rogalski M J, 2010). Altri studi evidenziano invece come il solo utilizzo intravaginale di benzodiazepine non migliori l'ipertono del pavimento pelvico, rispetto al beneficio apportato dalle sole terapie fisiche di rilassamento muscolare (Crisp C C, 2013). La letteratura, riguardo a quest'opzione terapeutica, è ancora limitata e ci sono dati contrastanti.

ACIDO ALFA LIPOICO

Scoperta e prime indicazioni

L'Acido alfa-lipoico (ALA), noto anche come acido tiotico (TA) e acido 1,2-dithiolano-3-pentanoico, è un acido grasso con una catena di otto atomi di carbonio sulla quale sono legati due atomi di zolfo in posizione 6 e 8. Questa molecola è stata scoperta nel 1937 da Snell ma fu isolata per la prima volta nel 1951 da estratti di fegato dai biochimici americani L.J. Reed e I.C. Gunsalus, che riuscirono ad ottenerne solo 30 milligrammi partendo da 100 kg di fegato. Il primo impiego clinico dell'ALA risale agli anni Settanta quando Berkson iniettò l'acido alfa lipoico in pazienti con epatite fulminante per intossicazione da funghi (amanita falloide) e osservò rapidi miglioramento dei sintomi. Nello stesso periodo l'ALA iniziò ad essere studiato negli Stati Uniti e in Germania in modelli animali con diabete. Le osservazioni emerse da questi studi sperimentali posero le basi per lo sviluppo clinico dell'ALA nella neuropatia diabetica, con diversi studi clinici randomizzati e controllati verso placebo, inizialmente con formulazioni iniettive e successivamente con formulazioni orali. Questi primi studi posero le basi per le successive molteplici applicazioni cliniche di questa molecola.

Sintesi, assorbimento, biodisponibilità e dosaggio dell'Acido alfa-lipoico

L'Acido alfa-lipoico si trova comunemente in alimenti come verdure (spinaci, broccoli, pomodori) e carni, principalmente visceri, e anche in molti integratori alimentari. L'ALA viene sintetizzata attraverso reazioni enzimatiche nei mitocondri degli animali e delle piante a partire dall'acido ottanoico e dalla cisteina (Szelag M, 2012), infatti le cellule dei mammiferi possono sintetizzare l'ALA attraverso l'azione dell'acido lipoico sintetasi mitocondriale (LASY) (Padmalayam I, 2009). Nella nostra specie la produzione endogena di Acido alfa lipoico è minima e per questo motivo il supporto alimentare risulta essere di fondamentale importanza.

L'acido tiotico esiste in due forme enantiomeriche, R e S (Szelag M, 2012) (Figura 10).

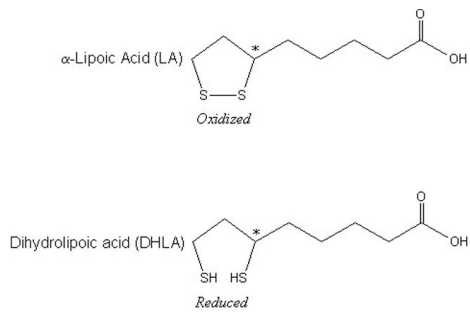


Fig. 10

L'assorbimento e la biodisponibilità di ALA sono stati studiati principalmente da integratori alimentari contenenti R-ALA e S-ALA. In generale, la biodisponibilità assoluta di entrambi non è superiore al 40%, tale percentuale diminuisce con l'assunzione di cibo. Pertanto, l'Acido alfa-lipoico deve essere assunto almeno 30 minuti prima dei pasti (Packer L, 2001). La limitata biodisponibilità di ALA è conseguenza di una rilevante metabolizzazione presistemica, effetto del primo passaggio epatico. Quindi il problema fondamentale da affrontare nel suo utilizzo è quello di aumentare la biodisponibilità in modo che il composto somministrato possa esercitare i suoi effetti.

Alcuni studi sperimentali hanno dimostrato che R-ALA ha una maggiore biopotenza in diversi percorsi metabolici rispetto a S-ALA (Moini H, 2002) e che l'Acido alfa-lipoico transita attraverso le membrane plasmatiche in modo pH dipendente, sfruttando il trasportatore degli acidi monocarbossilici.

Somministrato come compressa monodose (da 50 mg a 600 mg) ALA è interamente assorbito nell'intervallo temporale tra 30 minuti e 1 ora e l'emivita ($t_{1/2}$) nel plasma è di 30 minuti (Goraca A, 2011). Indipendentemente dalle fonti originarie (dieta o integratori nutrizionali) l'ALA viene ridotta a DHLA e metabolizzata nel fegato in diversi metaboliti e ha escrezione renale.

Attualmente l'uso di ALA come integratore alimentare sta crescendo in molti aspetti della gestione medica e nutrizionale dei pazienti. Il suo dosaggio ottimale per via orale è stato determinato dallo studio SYDNEY II (Ziegler D, 2006), che ha dimostrato che il dosaggio 600 mg/die è efficace nel ridurre i sintomi della neuropatia diabetica in modo significativo rispetto al placebo dopo 2 settimane di trattamento. Dosaggi superiori (1200 e 1800 mg/die) hanno dimostrato una maggiore rapidità d'azione, con un'azione sul dolore significativa verso placebo dopo 1 settimana di trattamento, ma con la stessa efficacia del 600 mg/die a partire dalle due settimane di trattamento. Questa molecola non presenta alcuna tossicità anche a dosi molto più elevate di quelle

terapeutiche. Uno studio su un modello animale ha consentito di stabilire il valore della dose letale (DL50) ovvero la dose espressa in mg/kg di peso corporeo che provoca la morte del 50% degli animali sottoposti a trattamento, tale valore corrisponde a 2000 mg/kg. Si pensi che in un soggetto che pesa 40 kg l'assunzione giornaliera di 800 mg di ALA per os equivale ad una dose di 20 mg/kg sottolineando la sicurezza della molecola alle dosi normalmente impiegate. E' stato inoltre dimostrato che la somministrazione orale di 1800 mg/die del composto per 6 mesi non ha portato nessuna significativa conseguenza rispetto al placebo (Ziegler D, 2004).

Proprietà antiossidante e antinfiammatoria dell'Acido alfa-lipoico e sua azione nel metabolismo energetico cellulare

L'ALA e la sua forma ridotta DHLA, sono considerati potenti agenti antiossidanti naturali agendo come scavengers di radicali liberi e partecipando a reazioni redox. È importante notare che non esiste un accordo circa la capacità scavenger specifica di ogni forma; è stata infatti descritta una diversa capacità "spazzino" di ALA e DHLA sulla fase acquosa e della membrana, ovvero l'ambiente potrebbe essere un fattore importante per determinare la sua efficacia. L'ALA presenta alcuni importanti vantaggi rispetto ad altri agenti antiossidanti come la vitamina E e la C, in quanto dispone di proprietà anfifiliche che conferiscono capacità antiossidanti nella membrana (Scott BC, 1994); è quindi l'unico antiossidante in grado di svolgere la propria attività sia in fase acquosa che lipidica, contrastando dunque sia la perossidazione dei lipidi delle membrane cellulari e mitocondriali sia l'ossidazione delle proteine e del DNA. Grazie alla sua attività di coenzima è inoltre in grado di rigenerare altri antiossidanti fondamentali quali la vitamina C, la vitamina E, il coenzima Q e il rapporto di glutathione ridotto/ossidato.

Un effetto pro-ossidante dell'ALA è descritto in alcuni studi sperimentali, ma è generalmente osservato a concentrazioni più elevate rispetto alla concentrazione plasmatica rilevata dopo somministrazione orale o intravenosa dei dosaggi standard (Rochette L, 2013).

L'azione forse più interessante dell'ALA è quella antinfiammatoria che si esplica attraverso vari meccanismi, prima fra tutti l'azione inibitoria sul fattore di trascrizione nucleare NF-κB (Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) (Lee C K, 2008), importante regolatore del processo infiammatorio. In forma inattiva l'NF-κB è sequestrato nel citoplasma attraverso un legame diretto con un inibitore specifico chiamato IκB. Viene attivato da segnali extracellulari che provocano il distacco dell'inibitore e quindi il suo trasferimento nel nucleo, dove si lega a specifici siti del DNA e ne regola la trascrizione (Shay KP, 2009). NF-κB modula la biosintesi di numerose citochine infiammatorie, fra cui IL-1, IL-6 e TNF-α. L'NF-κB risulta attivato in modo aberrante nelle patologie infiammatorie, autoimmuni e in molte forme tumorali. Infine sembrerebbe anche coinvolto nei processi di plasticità sinaptica che sottendono molteplici funzioni superiori, fra cui la memoria.

La capacità modulatoria dell'ALA nei processi infiammatori si esplica anche attraverso altri meccanismi (Gomes e Negrato, 2014):

- riduce la capacità di adesione dei monociti e dei macrofagi e la loro attivazione inibendo l'espressione di molecole adesive (VCAM-1) a livello endoteliale;
- inibisce la migrazione dei linfociti T attraverso la down-regulation delle integrine, riducendo i livelli di MMP-P (metalloproteasi) e attenua, quindi, la risposta autoimmune che aggredisce le cellule nervose;
- modula la secrezione della prostaglandina E2 (PGE2) e inibisce l'espressione della cicloossigenasi di tipo 2 (COX-2);
- riduce il numero di mastociti nella mucosa, il rilascio di istamina ed il livello di IgE nel siero.

L'azione antinfiammatoria dell'ALA si esplica non solo a livello periferico inibendo l'attivazione delle cellule immunitarie (monociti, macrofagi, linfociti T e neutrofili) ma anche a livello centrale dove, grazie alla sua capacità di attraversare la barriera ematoencefalica, riduce l'attivazione della microglia, andando ad agire sull'espressione dell'NF-κB (Suzuki, 1992).

Oltre alle molteplici azioni antiossidanti ed antiinfiammatorie, l'Acido alfa-lipoico esplica la propria azione anche come coenzima del metabolismo energetico delle cellule. ALA infatti è un cofattore del ciclo di Krebs nel processo di conversione del

glucosio, degli acidi grassi e delle altre fonti energetiche in adenosintrifosfato (ATP). La supplementazione con l'ALA aumenta la biosintesi di ATP e le disponibilità energetiche e autoriparative delle cellule, ha effetto ipoglicemizzante, stimolando l'uptake del glucosio nelle cellule muscolari, ed infine aumenta l'uptake di glucosio a livello del nervo. Quest'ultima capacità aumenta l'energia a disposizione della cellula nervosa, effetto importante nel paziente diabetico, dove si riscontra un deficit delle disponibilità energetiche del nervo.

Acido alfa-lipoico e dolore

In letteratura è sempre più evidente il ruolo dei radicali liberi e degli antiossidanti nella modulazione del dolore. In un modello animale i livelli della superossido dismutasi, antiossidante endogena, sono stati correlati con il grado di iperalgesia indotta da capsaicina; livelli inferiori di antiossidanti sono stati associati ad una maggiore iperalgesia. Questi risultati suggeriscono che l'elaborazione del dolore indotta da lesioni è dovuta in parte all'accumulo di radicali liberi dell'ossigeno. Evidenze precliniche e cliniche suggeriscono che i differenti composti antiossidanti hanno effetti analgesici in varie condizioni del dolore, come, per esempio, la vitamina C nella sindrome da dolore regionale complesso, la proteina di soia nel dolore neuropatico e l'acido alfa lipoico nel dolore associato alla neuropatia diabetica. L'acido alfa-lipoico ha un'attività antiossidante in entrambe le forme ALA e DHLA ed è probabilmente l'antiossidante che è stato studiato più ampiamente per la sua efficacia analgesica negli esseri umani. Le evidenze precliniche per i meccanismi analgesici di ALA includono la diminuzione della sensibilità alla stimolazione nociva attraverso l'inibizione dei canali del calcio di tipo T (Cav3.2). Clinicamente, almeno 16 RCT di ALA che coinvolgono più di 1320 partecipanti hanno riportato riduzioni nel dolore e altri sintomi di neuropatia diabetica. Anche se il miglioramento sintomatico con ALA è stato dimostrato principalmente nelle popolazioni diabetiche con neuropatia, le prove suggeriscono anche il potenziale di efficacia in altre condizioni di dolore come neuropatia indotta da chemioterapici. Nel trial clinico IMPALA sono state studiate efficacia e sicurezza dell'ALA nel trattamento del dolore in pazienti affetti da fibromialgia dimostrando come questo antiossidante fornisca un sollievo dal dolore con minimi effetti collaterali (Gilron I, 2017). In un trial

randomizzato doppio cieco Memeo e Loiero hanno studiato l'efficacia dell'impiego di ALA 600 mg/die per il trattamento del dolore sciatico da erniazione discale dimostrando efficacia nel trattamento della sciatalgia e il suo impiego è associato ad un miglioramento dei sintomi e una riduzione della necessità di impiego di analgesici tradizionali (Memeo A, 2008). In un recente studio sperimentale su un modello animale con dolore viscerale correlato a diabete Sun e collaboratori hanno sottolineato come l'ALA svolga un ruolo analgesico, probabilmente mediato dalla inibizione delle espressioni e delle funzioni dei canali del sodio NaV1.7 e NaV1.8, fornendo così prove sperimentali sull'utilizzo dell'acido alfa lipoico per il trattamento dell'ipersensibilità del colon nei pazienti diabetici con dolore viscerale. Il trattamento con ALA ha infatti significativamente aumentato la soglia di risposta alla distensione del colon-retto nei ratti diabetici ed ha anche ridotto la densità di corrente neuronale di sodio dei neuroni che innervano il colon dei ratti affetti da diabete.

L'acido alfa-lipoico nella terapia multimodale del dolore cronico

Il dolore cronico può essere affrontato a due livelli: periferico e centrale.

A livello periferico si può agire sull'infiammazione e sull'eventuale lesione nervosa, mentre a livello centrale l'obiettivo terapeutico è l'infiammazione spinale e microgliale attivata dal dolore cronico.

Il ruolo dello stress ossidativo nella cronicizzazione del dolore è confermato da studi su modello animale che hanno dimostrato che un aumento di ROS (Reactive Oxygen Species) a livello spinale è correlato al dolore e alla sensibilizzazione centrale (Tan E C, 2009; Schwartz E S, 2009). Questo dato è rafforzato dal fatto che studi sperimentali hanno dimostrato che alcuni antiossidanti, tra cui l'acido alfa-lipoico, esercitano un effetto antinocicettivo.

Studi su modello animale hanno dimostrato che in caso di dolore cronico l'aumento di stress ossidativo induce apoptosi delle fibre afferenti, determinando un dolore da deafferentazione e un danno nervoso irreversibile. L'ALA ha dimostrato di inibire l'apoptosi neuronale indotta da stress ossidativo (Nebbioso M, 2013).

In sintesi, l'ALA ha dimostrato efficacia clinica in vari tipi di dolore cronico, neuropatico e infiammatorio, in quanto agisce sull'infiammazione periferica e centrale, inibendo l'attivazione dell'NF- κ B e, di conseguenza, delle cellule immunitarie

(linfociti, monociti, macrofagi e neutrofilii) e della microglia; agisce sulla cronicizzazione del dolore, grazie all'azione antinfiammatoria a livello spinale ed alla prevenzione dell'apoptosi.

ACIDI GRASSI POLINSATURI OMEGA 3

Negli ultimi trenta anni, l'interesse della comunità scientifica nei confronti degli acidi grassi polinsaturi Omega 3 (n-3 PUFA) è cresciuto in virtù della constatazione epidemiologica della bassa incidenza di eventi cardiovascolari in popolazioni che consumano grandi quantità di pesce. In particolare fu notato che tra gli eschimesi dell'Alaska e della Groenlandia (Inuit) e i giapponesi residenti nelle zone costiere l'incidenza della cardiopatia ischemica era inferiore a quella osservata tra gli eschimesi emigrati in paesi industrializzati e a quella dei nipponici che vivevano nell'entroterra. Dal confronto della mortalità tra gli Inuit della Groenlandia e la popolazione danese emerse che il rischio cardiovascolare tra i primi era 10 volte inferiore che tra i secondi e che i primi consumavano una dieta 5 volte più ricca in n-3 PUFA. (Hu FB, 2002).

Il precursore degli n-3 PUFA è l'acido alfa-linolenico che è definito essenziale in quanto non può essere sintetizzato dall'organismo umano e deve essere introdotto con la dieta. L'acido α -linolenico non può essere sintetizzato da parte dell'uomo in quanto negli animali manca la desaturasi necessaria per tale reazione. Al contrario le piante possiedono la $\Delta 15$ desaturasi e quindi sono in grado di sintetizzare Omega 3. Le fonti di acido α -linolenico sono quindi i vegetali a foglia verde (spinaci), legumi, frutta secca, oli vegetali quali l'olio di lino e l'olio di soia.

Gli acidi grassi Omega 3 sono così chiamati, perché il primo doppio legame si trova sul terzo carbonio della catena contando a partire dal gruppo metilico.

La via biosintetica degli acidi grassi Omega 3 si articola nei seguenti passaggi:

1. L'enzima $\Delta 6$ -desaturasi converte l'acido alfa-linolenico (C18:3) in acido stearidonico (SDA);

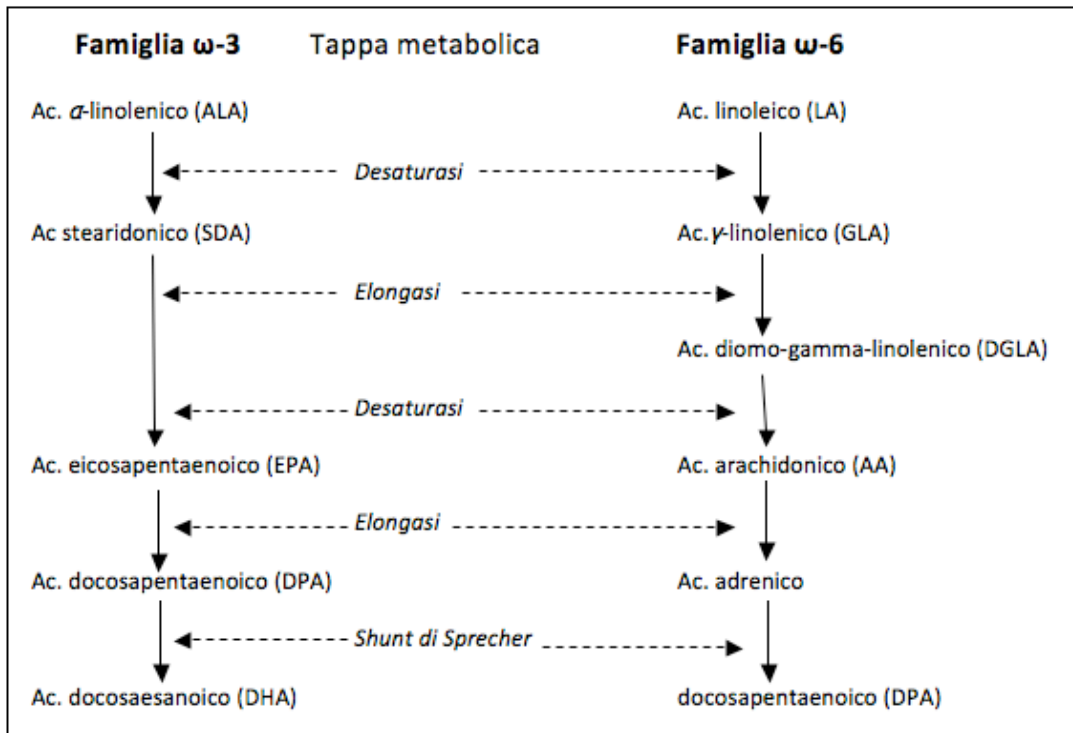


Fig. 11

- L'enzima Elongasi-5 converte l'acido SDA (C18:4) in acido eicosatetraenoico;
- L'enzima Δ 5-desaturasi converte l'acido eicosatetraenoico (C20:4) in acido eicosapentenoico (EPA);
- L'EPA (C20:5) viene convertito in acido docosapentenoico (DPA) ad opera dell'enzima Elongasi -2;
- Il DPA (C22:5) viene convertito in acido tetracosapentenoico dall'enzima Elongasi-2
- L'acido tetracosapentenoico (C24:5) viene convertito in acido tetracosaesanoico dall'enzima Δ 6-desaturasi;
- L'acido tetracosaesanoico (C24:6) viene accorciato di due unità carboniose ad opera dell'enzima retroconvertasi che è localizzato nei perossisomi. Da tale reazione si forma l'acido docosaesanoico (DHA, C22:6).

Il passaggio 1 è una tappa limitante di tale via biosintetica. L'enzima Δ 6- desaturasi è oggetto di competizione tra gli Omega 3 e gli Omega 6 in quanto converte l'acido alfa-linolenico in SDA e l'acido linoleico in acido γ -linoleico (GLA). L'attività enzimatica della Δ 6-desaturasi è inibita da grassi saturi, iperglicemia, alcool,

adrenalina, radiazioni ionizzanti e glucocorticoidi. La competizione per lo stesso sistema enzimatico e la variabile disponibilità di acidi grassi polinsaturi Omega 3 e Omega 6 influenzano la tipologia dei metaboliti prodotti dall'attività dell'enzima $\Delta 6$ -desaturasi. Se l'assunzione di acidi grassi Omega 6 è maggiore di quella di Omega 3, maggiore sarà la produzione di metaboliti dell'acido linoleico (quali acido arachidonico) e minore quella dei metaboliti dell'acido linolenico quali EPA e DHA. Ciò ha importanti implicazioni pratiche se si considera che i metaboliti derivati dall'acido linoleico e linolenico hanno effetti biologici profondamente diversi. L'acido arachidonico, metabolita dell'Omega 6, è il precursore delle prostaglandine della serie 1, dei trombossani della serie 2 e dei leucotrieni della serie 4 che producono vasocostrizione, attivazione dei leucociti polimorfonucleati e aumento della permeabilità vascolare. L'EPA e DHA sono i precursori di prostaglandine della serie 3 e dei leucotrieni della serie 5 che favoriscono la vasodilatazione. Nei paesi occidentali industrializzati il rapporto Omega 6:Omega 3 è ad oggi pari a 15:1.

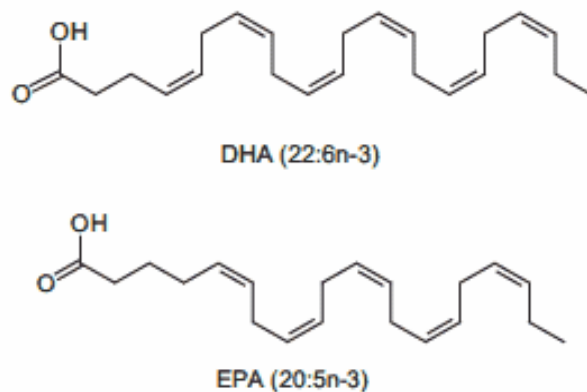


Fig. 12

Le raccomandazioni delle autorità internazionali per quanto riguarda l'assunzione giornaliera di EPA e DHA vanno da 200 a 650 mg/die (Nishida, 2007) tale raccomandazione deriva dal fatto che l'apporto endogeno di queste molecole è di fondamentale importanza in quanto gli acidi polinsaturi Omega 3 a lunga catena sono considerati acidi semi essenziali ; vengono infatti sintetizzati dall'organismo umano solo in piccola parte. La biosintesi endogena degli acidi grassi Omega 3 a lunga catena ha luogo principalmente a livello epatico e cerebrale ed è mediata da reazioni enzimatiche che avvengono del reticolo endoplasmatico e dei perossisomi.

EPA e DHA svolgono nel nostro organismo funzioni molteplici e di primaria

importanza. Gli effetti biologici di EPA e DHA comprendendo infatti effetti sulle lipoproteine, sulla pressione sanguigna, sulla funzione cardiaca, a livello endoteliale, nonché sulla reattività vascolare ed elettrofisiologia cardiaca.

Oltre ad un ruolo fondamentale degli acidi grassi Omega 3 nel controllo dell'omeostasi cardiocircolatoria EPA e DHA hanno dimostrato importanti effetti antinfiammatori e antinocicettivi (Calder P, 2004; Nakamoto K, 2011)

Omega 3 e regolazione del processo infiammatorio

La prima risposta che l'organismo mette in atto contro un'infezione o un danno è l'infiammazione, che ha il compito di iniziare il processo immunologico di eliminazione del patogeno e/o delle tossine e riparare, poi, il danno tissutale. Tali reazioni, però, devono essere coordinate e controllate. La risposta infiammatoria fa parte della normale ed innata risposta immunitaria, ciononostante, quando l'infiammazione si sviluppa in maniera incontrollata, essa può divenire una condizione patologica vera e propria. Risulta chiara quindi l'importanza dell'ottimizzazione, più che della massimizzazione della risposta immunitaria. Quando ha inizio una risposta infiammatoria, vengono attivate le fosfolipasi di membrana e la cellula lesa libera gli acidi grassi a 20 atomi di carbonio dalla membrana fosfolipidica, che verranno poi metabolizzati per produrre i diversi tipi di eicosanoidi. Gli eicosanoidi sono molecole immunoregolatrici esercitanti un effetto locale di breve durata ormone-simile; essi includono le prostaglandine, i leucotrieni, le prostaciline e i trombossani. Tali sostanze non possono essere immagazzinate nell'organismo, ma vengono sintetizzate a seconda della necessità a partire dagli acidi grassi polinsaturi che sono presenti nei fosfolipidi di membrana. La quantità ed il tipo di eicosanoidi sintetizzati dipende dalla disponibilità e tipologia degli acidi grassi precursori, nonché dall'attività di due sistemi metabolico-enzimatici, quali la ciclossigenasi e la lipossigenasi (Sumida C, 1993). I composti ottenuti dagli acidi grassi Omega 3 sono molto meno pro-infiammatori rispetto a quelli che si ottengono dal metabolismo dell'acido arachidonico. Oltre a produrre differenti famiglie di eicosanoidi, gli acidi grassi Omega 3 e Omega 6 sono in competizione tra loro per gli enzimi che attuano tale conversione; infatti, all'aumentare degli acidi grassi Omega 3 corrisponde una riduzione della quota di acidi grassi Omega 6 metabolizzata.

Il collegamento tra acidi grassi e risposta infiammatoria è da ricercarsi anche nella composizione dei fosfolipidi di membrana delle stesse cellule infiammatorie. Le cellule infiammatorie solitamente contengono un'elevata quantità di acido arachidonico ed una bassa quota di acidi grassi della serie Omega3, soprattutto di acido eicosapentanoico (EPA). La principale funzione dell'acido arachidonico è quella di essere il substrato per la sintesi di mediatori chimici appartenenti alla famiglia degli eicosanoidi. In presenza di un focolaio infiammatorio aumenta la quota di eicosanoidi derivati dall'acido arachidonico e infatti tali eicosanoidi sono stati ritrovati nel sangue e nei tessuti di pazienti affetti da traumi, scottature e in varie patologie che comportano disordini infiammatori (Tilley SL, 2001). L'acido arachidonico può essere liberato dalle membrane cellulari ad opera delle fosfolipasi, soprattutto dalle fosfolipasi A2. Una volta libero, l'acido arachidonico viene utilizzato come substrato dagli enzimi che sintetizzano gli eicosanoidi.

La via metabolica dell'acido arachidonico che sfrutta l'enzima ciclossigenasi (COX) dà origine alla serie 2 delle prostaglandine (PG) e dei trombossani. Fisiologicamente esistono due isoforme dell'enzima ciclossigenasi (COX): COX-1 e COX-2, e quest'ultima in particolare viene indotta dalle cellule infiammatorie ed è responsabile della elevata produzione di prostaglandine da parte delle stesse cellule che si ritrovano nel sito infiammatorio. Le PG sono formate nelle cellule attraverso processi specifici: le PGE2 e le PGF2 α sono prodotte in quantità elevata a seguito dell'attivazione di monociti e macrofagi; i neutrofili liberano una quantità minore di PGE2; i mastociti inducono la produzione di PGD2. In particolare, le PGE2 derivanti dall'acido arachidonico, hanno un marcato effetto pro-infiammatorio ed inducono febbre, aumento della permeabilità vascolare e vasodilatazione, aumentando la sensazione dolorifica e l'edema causati da altre sostanze, quali l'istamina e la bradichinina. Inoltre, le PGE2 promuovono la liberazione delle IgE dai linfociti B, cioè le stesse immunoglobuline che si liberano durante i processi allergici.

I leucotrieni sono considerati mediatori naturali pro-infiammatori (Calder P C, 2003) in quanto aumentano la permeabilità vascolare, sono vasocostrittori, aumentano il flusso ematico locale, manifestano una potente azione chemiotattica per i leucociti, inducono il rilascio degli enzimi lisosomiali, aumentano i processi ossidativi e stimolano la produzione di TNF- α , (tumor necrosis factor alfa) interleuchina-1 e

interleuchina-6.

Gli acidi grassi Omega 3 intervengono nella modulazione del processo infiammatorio contrastando l'eccessiva azione pro-infiammatoria dei derivati dell'acido arachidonico. Innanzitutto, un aumento della quantità di acidi grassi Omega 3 presenti nelle cellule comporta una diminuzione della quota di acido arachidonico nelle membrane delle cellule infiammatorie; ciò si traduce in una minore disponibilità di substrato per la sintesi degli eicosanoidi derivati dall'acido arachidonico. L'azione di contrasto non si limita a una semplice riduzione del substrato disponibile, infatti gli Omega3 competono con l'acido arachidonico utilizzando le stesse vie metaboliche, facendo cioè da substrato per gli stessi enzimi.

Secondo alcune ricerche condotte su colture di monociti, EPA e DHA sono in grado di inibire la produzione di citochine pro-infiammatorie, come l'interleuchina (IL) 1 β ed il TNF α , e di IL-6 e IL-8 in colture di cellule endoteliali venose, determinando inoltre una minore presenza di IL-2 accompagnata da una ridotta attivazione dei linfociti T.

Il riconoscimento del fatto che EPA e DHA abbiano proprietà antinfiammatorie (Calder, 2006), suggerisce che un aumento del loro apporto alimentare, attraverso una correzione del rapporto tra acidi grassi Omega 6 ed Omega 3 della dieta possa ridurre l'incidenza e la gravità di alcune malattie infiammatorie.

Omega 3 e Dolore

Gli Acidi grassi Omega 3 intervengono in molteplici reazioni fisiologiche e svolgono un ruolo vitale nell'omeostasi. Recentemente è stato evidenziato un coinvolgimento di PUFA n-3 nel controllo del dolore infiammatorio associato all'artrite reumatoide e dismenorrea (Calder P, 2008). Come è stato ampiamente illustrato gli Omega 3 sopprimono la produzione di citochine infiammatorie e eicosanoidi, e questa azione anti-infiammatoria da parte di PUFAs è ritenuta essere responsabile della soppressione del dolore. Inoltre, l'assunzione di PUFA n-3 blocca l'attività della proteinchinasi attivata da mitogeni che è coinvolta nella modulazione della sensibilizzazione centrale indotta da dolore infiammatorio e neuropatico, suggerendo

un altro potenziale percorso dell'inibizione del dolore mediato da parte degli acidi grassi Omega 3 (Tokuyama S, 2011). È interessante notare che l'assunzione di acido alfa-linolenico è in grado di sopprimere la produzione di acido lisofosfatidico, un fattore fortemente correlato allo sviluppo del dolore neuropatico. In letteratura molteplici sono le evidenze che dimostrano il coinvolgimento del DHA nel controllo del dolore; in particolare studi eseguiti su modelli sperimentali di dolore hanno dimostrato che DHA è dotato di effetti antinocicettivi dose-dipendenti e di un effetto calmante sul dolore neuropatico. Le funzioni fisiologiche e farmacologiche del DHA che supportano tale ipotesi includono: 1) un effetto antinfiammatorio attraverso la soppressione della cascata dell'acido arachidonico, 2) l'inibizione dei canali di sodio, 3) l'azione agonistica verso il potenziale di ricircolo transitorio vanilloide 1 (TRPV1) che è strettamente associato all'insorgenza dell'infiammazione e infine 4) l'inibizione dei canali di calcio (Nakamoto K, 2011).

Oltre ai meccanismi antinocicettivi illustrati, secondo alcuni autori il DHA è in grado di svolgere un'azione antinocicettiva andando a modulare direttamente la funzione dei recettori degli oppioidi e controllando il rilascio degli oppioidi endogeni. In un recente studio pubblicato da Nakamoto e collaboratori gli autori sono andati a dosare i livelli plasmatici di beta endorfina dopo trattamento con DHA e hanno riscontrato un aumento del dosaggio plasmatico di questa molecola (Fig 13) (Nakamoto K, 2011).

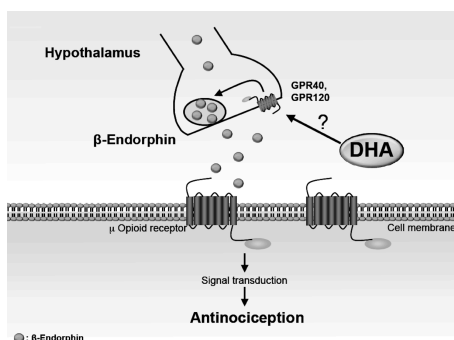


Fig. 13

Come ampiamente illustrato gli effetti benefici delle PUFA n-3 in varie malattie infiammatorie sono state spiegate dall'azione antagonista delle PUFA n-3 verso la cascata dell'acido arachidonico. Tuttavia recenti studi hanno dimostrato che, quando

metabolizzati da cicloossigenasi e lipossigenasi, DHA ed EPA sono convertiti in potenti molecole antinfiammatorie, le resolvine (Xu ZZ, 2010). Queste molecole sono mediatori lipidici endogeni generati durante la fase di risoluzione dell' infiammazione acuta e hanno potenti azioni antinfiammatorie in diversi modelli animali. Le resolvine esplicano la loro azione antinfiammatoria agendo sui recettori accoppiati a proteina G (GPRS) e agendo come antagonista sui recettori BLT1 dei neutrofilo e delle cellule dendritiche. Questa ultima azione fa sì che si abbia la soppressione dell'infiltrazione dei leucociti e un'inibizione del segnale di NF-kB e MAP chinasi con conseguente riduzione della sintesi e del rilascio di molecole proinfiammatorie (Lim Ji, 2015).

In base a quanto riportato è evidente come l'assunzione di PUFA n-3 sia altamente efficace nel ridurre l'infiammazione e quindi il dolore infiammatorio e neuropatico e come i metaboliti degli acidi grassi siano coinvolti in tale attività.

SCOPO DELLO STUDIO

Lo scopo del presente studio è valutare l'efficacia di un preparato a base di acido alfa lipoico e acidi grassi polinsaturi omega 3 quale trattamento nella vestibolodinia. L'obiettivo primario è quello di valutare l'impatto del preparato nei confronti dei sintomi e segni della malattia quale unico presidio di cura, prima di intraprendere un protocollo di cura fisico riabilitativo con Elettrostimolazione Transcutanea del Nervo (TENS).

La nostra finalità è quella di verificare l'efficacia dell'utilizzo dell'integratore in studio come modulatore del dolore vulvare e della dispareunia. Si ipotizza che il preparato a base di acido alfa lipoico e omega 3 sia dotato di un'azione modulatoria della neuroinfiammazione.

Gli "end point" primari del nostro studio sono costituiti dalla valutazione della variazione:

- Bruciore e/o dolore vulvare valutati tramite scala analogica visiva VAS (scala graduata da 0=assenza di dolore a 10=dolore massimo, con evidenziazione dei valori intermedi secondo un tasso pari a 0,5)
- Grado di dispareunia valutato tramite score di Marinoff (0=Nessun dolore; 1= Il dolore causa disagio, ma non interferisce con la frequenza dei rapporti; 2=il dolore riduce la frequenza dei rapporti; 3= Il dolore impedisce sempre il rapporto) (34).

Gli "end point" secondari del nostro studio sono:

- Valutazione digitale semiquantitativa del tono muscolare vulvo-perineale con quantificazione tramite score crescente da 0 a 3 (0=Assenza di ipertono; 1=Ipertono lieve; 2=Ipertono moderato; 3=Ipertono severo).
- Valutazione del dolore mediante questionario di McGill-Melzack nella sua versione short (SF-MPQ).

MATERIALI E METODI

Lo studio che abbiamo condotto è uno studio clinico pilota monocentrico. E' stato attuato tra Gennaio 2016 e Giugno 2017 presso il Servizio di Patologia del Tratto Genitale Inferiore dell'U.O. di Ostetricia e Ginecologia del Presidio Ospedaliero Vittore Buzzi di Milano.

Le pazienti, per poter essere arruolate, dovevano soddisfare i seguenti criteri: aver ricevuto diagnosi di vestibolodinia con anamnesi di dolore vulvare alla provocazione da almeno 3 mesi (pressione, sfregamento e penetrazione ai rapporti sessuali e positività al tocco effettuato tramite l'apice di un cotton-fioc), in assenza di elementi clinicamente identificabili, avere un'età maggiore di 18 anni, non essere in menopausa (definita come 12 o più mesi di assenza del ciclo mestruale in età congrua), non assumere farmaci o praticare terapie per la vulvodinia da almeno 3 mesi. I criteri di esclusione, per i quali le pazienti non potevano partecipare allo studio, erano invece: stato di gravidanza in atto, concomitanza di infezioni vulvo-vaginali o dermatosi vulvari, pazienti affette da patologie neurologiche o neuromuscolari.

Verificati i criteri di eleggibilità, si informavano le pazienti sugli obiettivi dello studio e si consegnava loro il consenso informato scritto. Dopo l'ottenimento di tale consenso e la compilazione di un questionario dedicato, comprensivo di informazioni anamnestiche e sintomatologiche riferibili alla condizione di vestibolodinia, le pazienti venivano sottoposte a una visita ginecologica d'ingresso allo studio che comprendeva:

1. Esame obiettivo bimanuale di vagina-utero ed annessi
2. Vulvosopia
3. Valutazione di:
 - Bruciore e/o dolore vulvare valutati tramite scala analogica visiva –VAS- (scala graduata da 0=assenza di dolore a 10=dolore massimo, con evidenziazione dei valori intermedi secondo un tasso pari a 0,5)
 - Dispareunia valutata tramite score di Marinoff (0=Nessun dolore; 1= Il dolore causa disagio, ma non interferisce con la frequenza dei rapporti; 2=il dolore riduce la frequenza dei rapporti; 3= Il dolore impedisce sempre il rapporto)
4. Valutazione digitale semiquantitativa del tono della muscolatura perineale con quantificazione tramite score crescente da 0 a 3 (0=Assenza di ipertono; 1=Ipertono lieve; 2=Ipertono moderato; 3=Ipertono severo). L'ipertono del

pavimento pelvico, condizione che spesso è presente nella vulvodinia, è stato valutato mediante esame obiettivo del complesso dell'elevatore dell'ano, tale valutazione è stata eseguita da un esaminatore esperto (F.M., S.D.F).

5. Questionario sul dolore di McGill-Melzack nella sua versione short (SF-MPQ). Lo short form del Mc Gill Pain Questionnaire consiste in 15 parole riguardanti la qualità sensoriale (11) e la qualità affettiva (4), scelte perché usate più frequentemente dai pazienti con vari tipi di dolore. (0=Assenza di dolore; 1=dolore lieve; 2=dolore moderato; 3=dolore severo) (range 0-45). Le parole sensoriali descrivono l'esperienza del dolore in termine spazio temporale, di pressione e qualità termiche, e le parole affettive descrivono il dolore in termini di paura e di proprietà autonome che fanno parte dell'esperienza del dolore. Il questionario del dolore McGill è stato scelto perché è una scala di valutazione del dolore convalidata per gli studi riguardanti la vulvodinia e perché è stato dimostrato essere sensibile per la valutazione del trattamento in altre condizioni di dolore cronico.

Le risposte delle pazienti a suddetti questionari sono interamente soggettive e un miglioramento almeno di un grado della dispareunia/dolore è stato considerato come una risposta positiva al trattamento.

Le pazienti hanno assunto per via orale un integratore alimentare sotto forma di capsule a base di Acido alfa-lipoico 300 mg, DHA 125 mg ed acido EPA 8,34 mg. La dose giornaliera somministrata prevedeva l'impiego di 3 capsule al giorno lontano dai pasti per una durata di 8 settimane.

Dopo 8-10 settimane dall'inizio dello studio, le pazienti sono state sottoposte ad una visita ginecologica di controllo, in occasione della quale venivano intervistate sul regolare svolgimento della terapia, sulla sintomatologia clinica, sulla presenza di eventuali eventi avversi riferibili al trattamento oggetto di sperimentazione e venivano ripetuti i punti dall' 1 al 5 della visita d'ingresso allo studio.

ANALISI STATISTICA

Per ciascun endpoint, il numero e la percentuale dei pazienti con e senza adeguato miglioramento è stato riassunto utilizzando la statistica descrittiva.

Il numero e la percentuale di pazienti migliorati dopo trattamento sono stati confrontati con il pre trattamento mediante test t Student. Valori di $P < 0,05$ sono stati considerati statisticamente significativi.

L'analisi statistica è stata eseguita usando SPSS versione 20.0 (IBM Corp., Armonk, NY).

Il punteggio di dolore VAS, SFMPQ, dispareunia e tono muscolare del pavimento pelvico sono stati valutati per testare l'efficacia clinica.

Per le statistiche descrittive abbiamo utilizzato media, mediana, deviazione standard, minimo e massimo dei valori per le variabili quantitative, e frequenze assolute e relative per variabili qualitative.

RISULTATI

Un totale di 84 pazienti con vestibolodinia sono state arruolate nello studio tra Gennaio 2016 e Giugno 2017. Nessuna paziente ha abbandonato lo studio a causa di eventi avversi. L'età media delle pazienti in studio era di 33,1 anni e riferivano l'insorgenza della vestibolodinia da un periodo medio di $28.4 \pm 19.4/24$ (Media \pm SD/mediana) mesi. Il 54% dei soggetti arruolati assumeva contraccettivi estrogeno-progestinici al momento dello studio, da un periodo medio di 36 mesi. Il 75 % delle donne totali erano nulligravide.

Tabella 1: Caratteristiche demografiche delle pazienti

<i>Età (anni)</i>	$33.1 \pm 7.7/29$ (18 to 50)
<i>Durata di malattia (mesi)</i>	$28.4 \pm 19.4/24$ (3 to 84)
< 12	10 (11.9%)
12-24	28 (33.3%)
> 24	46 (54.8%)

Media \pm SD/mediana (minimo e massimo).

Per quanto concerne il dolore vulvare, valutato tramite la scala analogica visiva VAS (scala graduata da 0=assenza di dolore a 10=dolore massimo, con evidenziazione dei valori intermedi secondo un tasso pari a 0,5), abbiamo riscontrato una riduzione della media del dolore del 39,2 % dal baseline alla visita di controllo dopo il trattamento. Tale valore risulta essere statisticamente significativo ($P < 0,001$). La VAS media al momento del reclutamento era di 7,9 ed è passata a 4,8 dopo 8 settimane di trattamento con il preparato in studio.

Se consideriamo i risultati ottenuti dal questionario di McGill-Melzack nella sua versione short (SF-MPQ) si evidenzia una riduzione del 41,8 % della media del dolore avvertito dalle pazienti prima e dopo il trattamento, tale riduzione risulta statisticamente significativa ($P < 0,001$).

Tabella 2: Variazioni della scala di risposta al dolore valutata mediante scala analogica VAS e SF-MPQ

	<i>Basale</i>	<i>Post-Terapia</i>	<i>P</i>
<i>VAS scala analogica Pain score</i>	$7,9 \pm 1,8$	$4,8 \pm 1,2$	$< 0,001$
<i>SF-MPQ</i>	$28,7 \pm 1,2$	$16,7 \pm 3,5$	$< 0,001$

Media \pm SD , P Paired t test

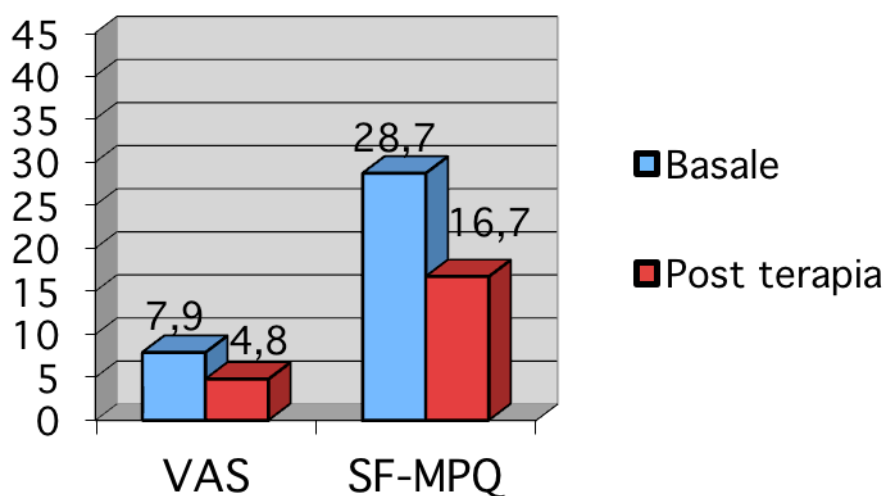


Grafico1: Variazione della media di VAS e SF-MPQ prima e dopo trattamento con il preparato in studio ($P < 0,001$)

Nel grafico 2 è rappresentata la variazione del tono della muscolatura del pavimento pelvico ottenuta dopo 8 settimane di trattamento con il preparato in studio. Il tono muscolare è stato valutato mediante studio digitale semiquantitativo e attribuzione di score crescente da 0 a 3 (0=Assenza di ipertono; 1=Ipertono lieve; 2=Ipertono moderato; 3=Ipertono severo). Dai dati si evidenzia che delle pazienti con tono lieve al reclutamento 2 sono rimaste invariate e 2 hanno subito un peggioramento a score 2. La maggior parte delle pazienti del gruppo ipertono moderato al baseline non ha subito variazioni; di questo sottogruppo di pazienti il 33,3% ha subito un peggioramento dell'ipertono passando da ipertono moderato a severo e il 4,7% delle pazienti è andata incontro ad una riduzione dell'ipertono con conseguente miglioramento.

Le pazienti del sottogruppo ipertono severo non hanno subito variazione del tono muscolare nel 47,3 % dei casi (18 casi); 6 pazienti che presentavano score 3 al momento del reclutamento hanno ridotto il tono muscolare a livello lieve dopo 8 settimane di terapia e 14 pazienti sono passate a ipertono moderato.

Se consideriamo il totale del campione analizzato il 58,3 % delle pazienti non presenta variazioni a carico del tono della muscolatura perineale, il 33,3% ha un miglioramento del tono muscolare dopo trattamento e l'8,3% delle pazienti trattate presenta un peggioramento del tono a carico della muscolatura del pavimento pelvico.

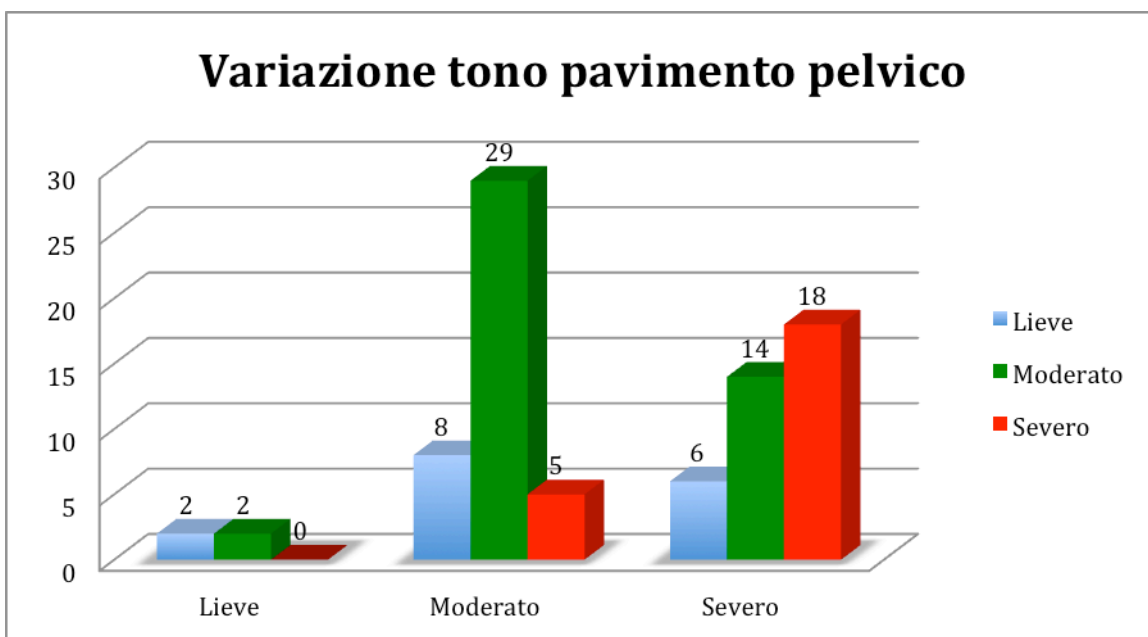


Grafico 2: *Variazione del tono della muscolatura del pavimento pelvico nelle singole pazienti dopo 8 settimane di trattamento; Il tono muscolare è stato valutato mediante valutazione digitale semiquantitativa. E attribuzione di score crescente da 0 a 3 (0=Assenza di ipertono; 1=Ipertono lieve; 2=Ipertono moderato; 3=Ipertono severo)*

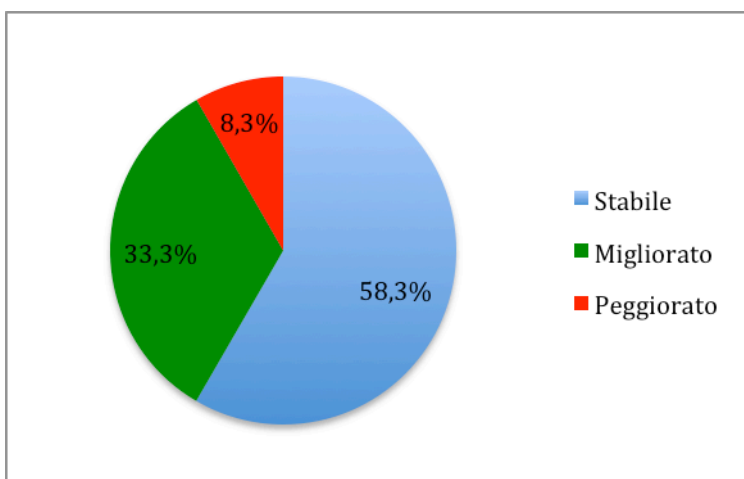


Grafico 3: *Percentuale di pazienti che presentano variazione del tono della muscolatura del pavimento pelvico dopo 8 settimane di trattamento. Sono state considerate le seguenti categorie: “Stabile, migliorato, peggiorato”*

Tabella 3: Outcome della dispareunia e del tono del pavimento pelvico

Dispareunia	Basale	Post-trattamento
0	2 (2,4 %)	2 (2,4%)
1	10 (11,9 %)	22 (26,2%)
2	41 (48,8%)	44 (52,3 %)
3	31 (36,9 %)	16 (19 %)
Tono muscolatura pav.		
Pelvico		
Lieve	4 (4,7%)	16 (19,04 %)
Medio	42 (50%)	45 (53,5%)
Severo	38 (45,2%)	23 (27,4 %)

1=Ipertono lieve; 2=Ipertono moderato; 3=Ipertono seve

0=Nessun dolore;1= Il dolore causa disagio, ma non interferisce con la frequenza dei rapporti; 2=il dolore riduce la frequenza dei rapporti; 3= Il dolore impedisce sempre il rapporto

La dispareunia è stata valutata in base alla classificazioni di Marinoff e Turner. Le risposte delle pazienti al questionario in oggetto sono interamente soggettive e un miglioramento di almeno un grado della dispareunia è stato considerato come una risposta positiva al trattamento.

Se consideriamo la variazione della dispareunia nelle singole pazienti vediamo come nel gruppo con score lieve pre-trattamento il 60% delle pazienti è andato incontro ad un peggioramento dei sintomi passando da score 1 a 2. Le pazienti che al reclutamento presentavano score 2 sono migliorate nel 22% dei casi, con remissione della dispareunia in un caso; nessuna paziente appartenente allo score 2 in baseline ha presentato peggioramento dello score mentre il 78% non ha presentato variazione di score.

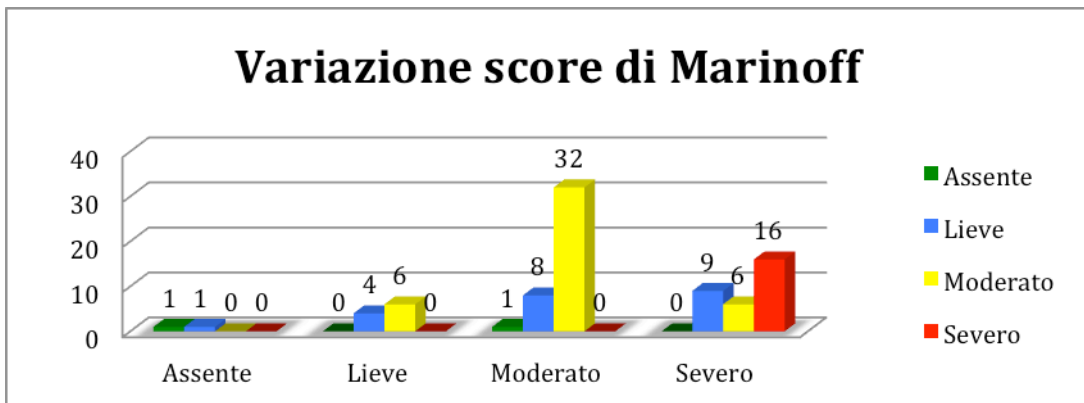


Grafico 4: variazione della dispareunia nelle singole pazienti

Infine le pazienti con score 3 prima del trattamento hanno dimostrato una riduzione significativa della dispareunia passando da score 3 ad 1 nel 29% dei casi e a score 2 nel 19% con un miglioramento complessivo nel 48,4% dei casi ($p < 0,05$).

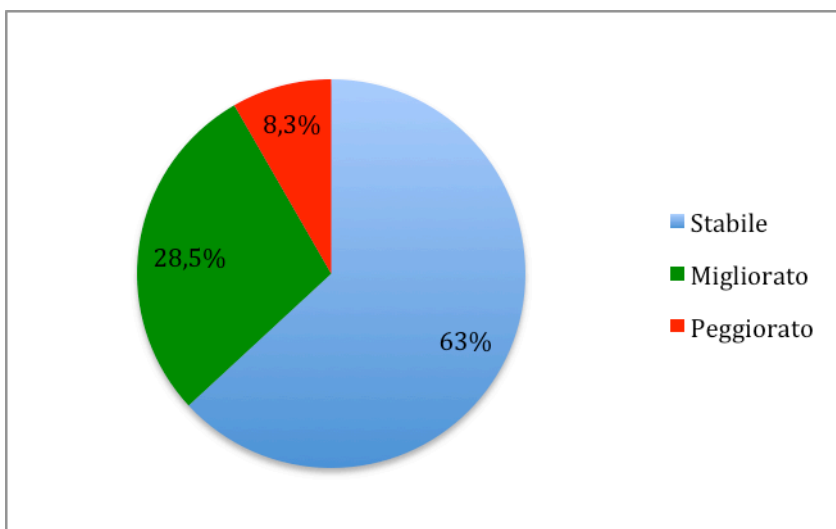


Grafico 5: Percentuale di pazienti che presentano variazione dello score di Marinoff dopo 8 settimane di trattamento. Sono state considerate le seguenti categorie: “Stabile, migliorato, peggiorato”.

Se si considera il totale del campione oggetto di studio è stato evidenziato un miglioramento dello score di Marinoff di almeno 1 punto nel 28,5% dei casi, assenza di variazione di score nel 63% ed un peggioramento nell’8.3% dei casi.

DISCUSSIONE

La vulvodinia è definita come un dolore vulvare della durata superiore a 3 mesi, senza alcuna causa identificabile (Bornstei J, 2016). La sua forma più frequente, la vestibolodinia, è caratterizzata da un'aumentata sensibilità delle terminazioni nervose a livello del vestibolo vulvare dovuta ad un processo infiammatorio chiamato infiammazione neurogenica (per cui è considerata una forma di dolore neuropatico) e da ipertono della muscolatura del pavimento pelvico. L'opinione prevalente è che il dolore vulvare produca uno spasmo del muscolo elevatore dell'ano e che l'ipertono del pavimento pelvico contribuisca a sua volta al mantenimento del dolore.

Gli anticonvulsivi, gli antidepressivi e gli oppioidi sono i farmaci più prescritti per il trattamento del dolore neuropatico.

Gli antidepressivi triciclici (TCA) sono ampiamente utilizzati nella gestione di molti dolori cronici che condividono con la vestibolodinia una patogenesi neurogenica (ad es. post-herpetica e fibromialgia); questi farmaci sono raccomandati come opzione nella gestione della vestibolodinia. Nelle sindrome del dolore neuropatico il dolore persistente è ritenuto principalmente dovuto all'attivazione del vie ascendenti e la disattivazione dei percorsi inibitori discendenti. È stato anche dimostrato che i TCA agiscono come agenti antinfiammatorie bloccando i recettori istaminergici H1 ed inibendo così il rilascio di mastociti.

Alcuni pazienti non sono in grado di tollerare gli effetti collaterali di questi farmaci mentre altri ottengono solo un sollievo parziale. Che cosa si può offrire a queste pazienti per il controllo del dolore? Un approccio multimodale con una combinazione di farmaci è generalmente considerata più efficace rispetto alla monoterapia per il trattamento del dolore neuropatico, tuttavia non è chiaro quali combinazioni siano migliori.

Un nuovo filone di ricerca che si sta percorrendo a livello terapeutico è quello della neuroinfiammazione che è fondamentale nella patogenesi dell'alterata nocicezione periferica. In questo processo sono coinvolti tutta una serie di mediatori dell'infiammazione che vanno da citochine, triptasi ed eparinasi, primariamente derivanti dalla degranulazione mastocitaria.

La neuroinfiammazione gioca un ruolo chiave nel dolore vestibolare infatti questo fenomeno potrebbe far parte di un processo in cui sono stimolati nocicettori primari afferenti, principalmente le fibre C, causando il successivo rilascio dei neuropeptidi che promuovono il perpetuarsi dell'infiammazione (per esempio, sostanza P e

citochine) e portano ad uno stato di amplificazione ed automantenimento ("windup") midollare. Quando questo sistema modulatore non è in grado di controllare in modo completo l'infiammazione, si ha l'insorgenza del dolore neuropatico (allodinia ed iperalgesia).

In considerazione del ruolo chiave svolto dall' infiammazione nell'eziopatogenesi della vestibolodinia riteniamo che sostanze ad azione modulatrice dell'infiammazione possano essere di notevole interesse nel trattamento della vulvodinia.

A questo proposito molteplici sono le evidenze riportate riguardo l'efficacia clinica dell'Acido alfa lipoico nel trattamento del dolore cronico neuropatico. Infatti l'Acido alfa lipoico è stato recentemente raccomandato come trattamento di prima scelta nel dolore neuropatico; questa molecola, date le sue caratteristiche chimiche, è in grado di esercitare un effetto inibitore sulla neuroinfiammazione.

L'ALA ha evidenziato efficacia clinica nel dolore neuropatico e infiammatorio, in quanto agisce:

- sull'infiammazione periferica e centrale, inibendo l'attivazione dell'NF- κ B e, di conseguenza, modulando l'azione delle cellule immunitarie (linfociti, monociti, macrofagi e neutrofili) e della microglia;
- sulla cronicizzazione del dolore, grazie all'azione antinfiammatoria a livello spinale ed alla prevenzione dell'apoptosi neuronale.

Uno studio osservazionale sull'impiego dell' l'Acido alfa-lipoico (ALA) in pazienti diabetici già in trattamento con gabapentin è di particolare interesse in quanto dimostra come il trattamento con ALA possa ridurre fino ad annullare nell'arco di 5 anni di trattamento la necessità di impiego di analgesici centrali, spesso gravati da importanti problemi di tollerabilità (Ruessmann HJ, 2009).

Negli ultimi anni altri studi hanno dimostrato l'efficacia dell'Acido alfa lipoico, somministrato per via orale al dosaggio di 600 mg/die, in altri tipi di neuropatia, in particolare le radicolopatie e la sindrome del tunnel carpale, la fibromialgia, la sciatalgia e le neuropatie cutaneo-mucose. In questi studi risulta evidente la significativa capacità di ALA di ridurre il dolore neuropatico e i deficit di conduzione nervosa rispetto ad altri trattamenti (acetil-carnitina, vitamine del gruppo B) (Memeo e Loiero, 2009; Letizia Mauro G, 2014). Per quanto riguarda le neuropatie cutaneo-mucose, uno studio clinico randomizzato in doppio cieco e controllato verso placebo in pazienti con sindrome della bocca urente (burning mouth syndrome) ha dimostrato

l'efficacia del trattamento con 600 mg/die di ALA per via orale (Femiano F, 2002). Altri studi clinici hanno confermato questo risultato e la più recente review della Cochrane sul trattamento della burning mouth syndrome riporta che l'ALA è l'unico principio attivo, oltre al clonazepam, ad avere dimostrato efficacia verso placebo in questa patologia (Zakrzewska JM, 2005).

In un recente studio pubblicato dal nostro gruppo di ricerca l'aggiunta di ALA (600 mg die) e acidi grassi polinsaturi Omega 3 al trattamento con amitriptilina in pazienti con vestibulodinia e sindrome della vescica dolorosa sembra migliorare gli outcome clinici (dolore, dispareunia e ipertono muscolare) consentendo al tempo stesso l'utilizzo di dosi più basse di amitriptilina, che si traduce in minor effetti collaterali (Murina F, 2017).

In considerazione dei dati incoraggianti ottenuti dal suddetto studio e considerato l'ormai consolidata attività antiossidante, antiinfiammatoria e immunomodulatoria dell'acido alfa lipoico, abbiamo ipotizzato che la combinazione di ALA con acidi grassi polinsaturi Omega 3 facesse sì che i due composti dotati entrambi di azione antinfiammatoria e antinocicettiva potessero agire in modo sinergico sul trattamento della vestibulodinia consentendo un approccio terapeutico iniziale sicuro e privo di effetti avversi maggiori.

Il dosaggio di Acido alfa-lipoico impiegato nello studio è di 900 mg/die, dosaggio maggiore rispetto a quello considerato in Italia come integratore ovvero fino a 800 mg/die, si tratta quindi di un regime terapeutico.

Il dosaggio ottimale di ALA per via orale è stato determinato dallo studio SYDNEY II (Ziegler D, 2006), che ha dimostrato che il dosaggio 600 mg/die è efficace nel ridurre i sintomi della neuropatia diabetica in modo significativo rispetto al placebo dopo 2 settimane di trattamento. Dosaggi superiori (1200 e 1800 mg/die) hanno dimostrato una maggiore rapidità d'azione, con un'azione sul dolore significativa verso placebo dopo 1 settimana di trattamento. L'acido alfa lipoico è ben tollerato. Anche negli studi clinici in cui sono stati somministrati alti dosaggi (1800 mg/die) gli unici effetti collaterali registrati sono stati lieve gastralgia e senso di pesantezza a livello gastrico, dovuti alla presenza dei gruppi tiolici (-SH) nella molecola.

Nel nostro studio solo 7 pazienti (8,33%) hanno riferito modesta gastralgia e nausea, tali sintomi non hanno comunque necessitato di alcun trattamento e non hanno costretto le pazienti ad abbandonare lo studio.

Il risultato principale del nostro studio è che un preparato nutraceutico a base di ALA

e Omega 3 ad alte dosi è efficace per la riduzione del dolore in pazienti affette da vestibolodinia.

Le pazienti trattate presentano infatti una riduzione del punteggio sull'indice di valutazione del dolore della scala analogica VAS e questionario SF-MPQ.

I nostri risultati dimostrano come un preparato a base di ALA e Omega 3 in monoterapia possa avere un'ottima capacità di controllo del dolore portando ad una riduzione del dolore calcolato con la scala VAS del 39,2%. Un risultato positivo sul trattamento del dolore è stato confermato dai risultati ottenuti mediante questionario McGill-Melzack nella sua versione short (SF-MPQ) si evidenzia infatti una riduzione del 41,8 %.

A nostro avviso l'acido alfa lipoico e gli omega 3 sono molecole di notevole interesse in quanto agiscono in maniera sinergica andando a modulare l'infiammazione e il dolore sia a livello periferico che centrale. L'inibizione della sintesi di molecole proinfiammatorie mediato da ALA e omega 3 e l'azione antiossidante dell'ALA consente di agire sul dolore non come farmaco sintomatico ma come sostanza che agisce sull'eziologia stessa del dolore ovvero la neuroinfiammazione. Grazie alla sua capacità di oltrepassare la barriera ematoencefalica ALA ha anche un'azione centrale andando a modulare l'azione della microglia. Gli Omega 3 hanno anch'essi un'azione diretta sulla modulazione del dolore. In un modello animale è stata dimostrata la capacità degli acidi grassi omega 3 nel modulare il dolore sia acuto che cronico; topi con una lesione parziale del nervo sciatico e trattati con Omega 3 presentavano una soppressione dell'allodinia meccanica e dell'iperalgia termica. Gli Omega 3 sopprimono la produzione di citochine infiammatorie e eicosanoidi, e si ritiene che un'azione antinfiammatoria esercitata dagli acidi grassi Omega 3 comporti la soppressione del dolore. L'assunzione di PUFA n-3 blocca l'attività della proteina chinasi attivata da mitogeni, che è coinvolta nella modulazione della sensibilizzazione centrale indotta da dolore infiammatorio e neuropatico, suggerendo un altro potenziale percorso per l'inibizione della trasmissione del dolore. Infine dati della letteratura evidenziano come l'effetto antinocicettore del DHA si eserciti anche in modo indiretto attraverso la modulazione del rilascio di un peptide oppioide endogeno ovvero beta endorfina (Nakamoto K, 2011).

Negli ultimi anni è emerso il ruolo antiinfiammatorio e modulatore del dolore di un gruppo di molecole chiamate resolvine. Tali molecole sono mediatori lipidici

endogeni sintetizzati a partire dagli acidi grassi Omega 3. Le resolvine sono coinvolte nella risoluzione dell'inflammation attraverso l'inibizione dei leucociti reclutati nel sito di inflammation; queste molecole sono inoltre in grado di controllare il dolore attraverso la modulazione diretta della trasduzione sensoriale e il controllo della plasticità sinaptica a livello del corno dorsale (Ji R R, 2011).

Per quanto concerne il sintomo dispareunia, ovvero il dolore ai rapporti, i risultati dello studio mettono in evidenza come l'efficacia del preparato nel ridurre la dispareunia presenti variazioni in funzione dello score di Marinoff al momento del reclutamento. Maggiore è lo score al momento del reclutamento più intensa è la sua efficacia.

Si è riscontrato un miglioramento dello score di Marinoff di almeno 1 punto nel 28,5% dei casi, assenza di variazione di score nel 63% ed un peggioramento nell'8.3%.

Tali risultati sono in parte in linea con i dati ottenuti dallo studio pubblicato da Murina in cui l'associazione ALA e amitriptilina nel trattamento della vestibolodinia ha dimostrato un peggioramento della dispareunia nel 12 % dei casi rispetto ai controlli trattati con sola amitriptilina (Murina F, 2017).

Come è stato ampiamente illustrato diverse evidenze scientifiche supportano l'ipotesi che la vestibolodinia coinvolga processi neurogeni indotti da meccanismi neuropatici quali sensibilizzazione del nocicettore, eccitabilità anomala di neuroni afferenti e la sensibilizzazione centrale agli impulsi nocicettivi; questi fenomeni potrebbero a nostro avviso essere coinvolti in modo progressivo nelle diverse fasi dello sviluppo della vestibolodinia a partire dal trigger factor.

I risultati del nostro studio mettono in evidenza come l'effetto dell'ALA e Omega 3 sull'ipertono muscolare presenti un'azione positiva in una discreta percentuale di pazienti (33,3 % delle pazienti), nessun effetto nella maggioranza dei casi e un effetto negativo nell'8,3% dei casi.

A nostro avviso il modesto effetto del preparato sull'ipertono è legato al fatto che la disfunzione della muscolatura del pavimento pelvico può essere la causa o la conseguenza della vestibolodinia. Come è ampiamente riportato dai dati della letteratura molte pazienti affette da vestibolodinia presentano disfunzioni a carico

della muscolatura del pavimento pelvico, ipertono muscolare, dolore miofasciale e dispareunia. Approssimativamente tra il 50% e l' 87% delle pazienti con vestibolodinia presentano disfunzione ipertonica del pavimento pelvico (HTPFD); tuttavia allo stato attuale non è del tutto chiaro se HTPFD sia il risultato della vulvodinia o se sia un fattore precipitante (Butrick CW, 2009).

Nel sottogruppo delle pazienti con vestibolodinia in cui il preparato in studio ha determinato un miglioramento del tono probabilmente l'ipertono era conseguente alla vulvodinia stessa ovvero un riflesso protettivo per evitare la penetrazione; in questo senso HTPFD può esacerbare i sintomi della vulvodinia.

Nelle pazienti in cui l'ipertono è invariato o addirittura peggiorato nonostante il trattamento probabilmente il danno muscolare era precedente alla vulvodinia. Un danno alle fibre muscolari con liberazione di mediatori dell'infiammazione come bradichinina, citochine e istamina può portare a sensibilizzazione dei nocicettori muscolari e riduzione della loro soglia meccanica, ciò fa sì che pressioni innocue o la normale contrazione muscolare possano essere percepite come dolorose. Variazioni della fisiologia e biomeccanica della muscolatura pelvica possono risultare da singoli eventi come infezioni vaginali acute, infezione delle vie urinarie, traumi, parto vaginale, chirurgia addominale o pelvica, errata postura, condizioni infiammatorie come l'endometriosi o la cistite interstiziale. I riflessi viscerosomatici che derivano da queste condizioni attivano i neuroni nocicettivi e contribuiscono alla variazione del tono della muscolatura pelvica (Cervigni M, 2014).

Il preparato in studio di per se non ha quindi un' azione diretta sull'ipertono ma una capita' indiretta di agire sulle disfunzioni della muscolatura del pavimento pelvico andando ad agire sui processi infiammatori alla base della vulvodinia.

I dati ottenuti mediante questo studio sono incoraggianti, tuttavia la limitata numerosità del campione ed il tipo di studio stesso (studio pilota) rendono necessaria l'impostazione di uno studio randomizzato doppio cieco, con follow-up a lungo termine, per valutare l'efficacia di un preparato a base di ALA e Omega 3 nel trattamento della vestibolodinia. Ciononostante, i risultati positivi ottenuti suggeriscono la possibilità che protrarre più a lungo il trattamento con ALA+Omega3 possa avere un' effetto sinergico positivo con il protocollo di cura attuato, come per altro già dimostrato nell'associazione con l'amitriptilina (Murina F, 2017).

La vulvodinia è una sindrome complessa, la cui eziologia rimane ad oggi non del tutto

chiara in cui sicuramente la componente neuroinfiammatoria rappresenta un punto importante.

La multimodalità del trattamento rappresenta quindi un ruolo chiave nella gestione della paziente con vestibolodinia e in questa prospettiva il preparato studiato potrebbe avere un ruolo rilevante nel predisporre positivamente il sistema della nocicezione alterata ad una risposta più efficace a trattamenti da porre in atto in una fase successiva.

Il valore aggiunto legato alla combinazione di ALA e Omega 3 è correlato al loro effetto sinergico antiinfiammatorio che agisce a diversi livelli nonché all'assenza di effetti collaterali legati al suo impiego.

BIBLIOGRAFIA

Aloisi F The role of microglia and astrocytes in CNS immune surveillance and immunopathology *Adv Exp Med Biol.* 1999;468:123-33

Andrews JC. Vulvodynia interventions-systematic review and evidence grading. *Obstet Gynecol Sur* 2011;66:299-315

Arnold LD, Bachmann GA, Rosen R et al. Assessment of vulvodynia symptoms in a sample of US women: a prevalence survey with a nested case control study. *Am J Obstet Gynecol* 2007;196, 128, e1-6

Babula O, Danielsson I, Sjoberg I, Ledger WJ, Witkin SS. Altered distribution of mannose-binding lectin alleles at exon I codon 54 in women with vulvar vestibulitis syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:762-766

Bélanger M, Magistretti PJ. The role of astroglia in neuroprotection. *Dialogues Clin Neurosci.* 2009;11(3):281-95.

Bohm-Starke N, Johannesson U, Hilliges M, Rylander E, Torebjork E. Decreased mechanical pain threshold in the vestibular mucosa of women using oral contraceptives: A contributing factor in vulvar vestibulitis? *J Reprod Med* 2004;49:888-92

Bohm-Starke N, Rylander E. Surgery for localized, provoked vestibulodynia: a long-term follow-up study. *J Reprod Med* 2008;53:83-9

Bornstein J(1), Goldstein AT, Stockdale CK, Bergeron S, Pukall C, Zolnoun D, Coady D; consensus vulvar pain terminology committee of the International Society for the Study of Vulvovaginal Disease (ISSVD), the International Society for the Study of Women's Sexual Health (ISSWSH), and the International Pelvic Pain Society (IPPS). 2015 ISSVD, ISSWSH and IPPS Consensus Terminology and Classification of Persistent Vulvar Pain and Vulvodynia. *Obstet Gynecol.* 2016 Apr;127(4):745-51.

Bouchard C, Brisson J, Fortier M, Morin C, Blanchette C. Use of oral contraceptive pills and vulvar vestibulitis: A casecontrol study. *Am J Epidemiol* 2002;156:254-61

Buhling KJ, Schmidt S, Robinson JN et al. Rate of dyspareunia after delivery in primiparae according to mode of delivery. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2006;124:42-46

Buchanan J, Zakrzewska J. Burning mouth syndrome. *Clin Evid.* 2005 Dec;(14):1685-90

Butrick CW. Pelvic floor hypertonic disorders: identification and management. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2009;36:707e22.

Calder P. C., Proc. Nutr. Soc., 67, 409—418 (2008).

Calder, P.C. 2003. n-3 Polyunsaturated fatty acids and inflammation: From molecular biology to the clinic. *Lipids* . 38:343– 352. doi:10.1007/s11745-003-1068-y.

Calder, P. 2004. n-3 Fatty acids and cardiovascular disease: evidence explained and mechanisms explored.

Calder, P.C. 2006. n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *The American Journal of Clinical Nutrition* . 83:1505S– 1519S.

Calvo M, Bennett DL. The mechanisms of microgliosis and pain following peripheral nerve injury. *Exp Neurol* 2012; 234: 271–82.

Casey KL, Minoshima S, Morrow TJ, Koeppe RA. Comparison of human cerebral activation patterns during cutaneous warmth, heat pain, and deep cold pain. *J Neurophysiol* 1996;76:571-581

Cervigni M, Natale F. Gynecological disorders in bladder pain syndrome/ interstitial cystitis patients. *Int J Urol* 2014;21:85e8.

Crisp CC, Vaccaro CM, Estanol MV, Oakley SH, Kleeman SD, Fellner AN and Pauls RN. Intra-vaginal diazepam for high-tone pelvic floor dysfunction: a randomized placebo-controlled trial. *Int Urogynecol J* 2013;24:1915-1923

Desrochers G, Bergeron S, Landry T, Jodoin M. Do psychosexual factors play a role in the etiology of provoked vestibulodynia? A critical review. *J Sex Marital Ther* 2008;34(3):198-22

Falsetta ML(1), Foster DC(2), Woeller CF(1), Pollock SJ(1), Bonham AD(2), Haidaris CG(3), Stodgell CJ(2), Phipps RP(4). Identification of novel mechanisms involved in generating localized vulvodynia pain. *Am J Obstet Gynecol*. 2015 Jul;213(1):38.e1-12.

Farage MA, Galask RP. Vulvar vestibulitis syndrome: a review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005;123:9-16

Femiano F. Burning mouth syndrome (BMS): an open trial of comparative efficacy of alpha-lipoic acid (thioctic acid) with other therapies. *Minerva Stomatol*. 2002 Sep;51(9):405-9.

Foster DC, Sazenski TM, Stodgell CJ. Impact of genetic variation in interleukin-1 receptor antagonist and melanocortin-1 receptor genes on vulvar vestibulitis syndrome. *J Reprod Med* 2004;49(7):503–9

Foster DC, Kotok MB, Huang LS, Watts A, Oakes D, Howard FM, Stodgell CJ, Dworkin RH. The tampon test for vulvodynia treatment outcomes research: reliability, construct validity, and responsiveness. *Obstet Gynecol* 2009 Apr;113(4):825-32

Goetsch MF, Morgan TK, Korcheva VB, Li H, Peters D and Leclair CM. Histologic and receptor analysis of primary and secondary vestibulodynia and controls: a prospective study. *Am J Obstet Gynecol* 2010;202:614.e1-8

Golbidi S, Badran M, Laher I: Diabetes and alpha lipoic Acid. *Front Pharmacol* 2011, 2:69

Ghizzani A(1), Tinacci G(2).Evaluation of vestibular biopsy features in patients affected by fibromyalgia, by vulvodynia or by their association. *Pathologica*. 2016 Dec;108(4):154-159.

Gerber S, Bongiovanni AM, Ledger WJ, Witkin SS. Interleukin-1beta polymorphism in women with vulvar vestibulitis syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2003;107:74-77

Glazer HI, Jantos M, Hartmann EH, Swencionis C. Electromyographic comparisons of the pelvic floor in women with dysesthetic vulvodynia and asymptomatic women. *J Reprod Med* 1998;43:959-962

Graziottin A, Murina F. The therapeutic challenge of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Minerva Ginecologica* 2010;12:

Goraça A(1), Huk-Kolega H, Piechota A, Kleniewska P, Ciejka E, Skibska B. Lipoic acid - biological activity and therapeutic potential. *Pharmacol Rep*. 2011;63(4):849-58.

Hu FB, Bronner L, Willett WC, Stampfer MJ, Rexrode KM, Albert CM, Hunter D, Manson JE. Fish and omega 3 fatty acid intake and risk of coronary heart disease in women. *JAMA*. 2002; 287:1815-1821.

Heyman S, Scarlett Y, Jones K, Ringel Y, Drossman D, Whitehead WE. Randomized, controlled trial shows biofeedback to be superior to alternative treatments for patients with pelvic floor dyssynergia-type constipation. *Dis Colon Rectum* 2007;50:428–441

Harlow BL, Stewart EG. A population-based assessment of chronic unexplained vulvar pain: have we underestimated the prevalence of vulvodynia? *J Am Med Womens Assoc* 2003;58:82-8

Ji R-R, Xu Z-Z, Strichartz G, et al. Emerging roles of resolvins in the resolution of inflammation and pain. *Trends Neurosci* 2011;34:599e609.

Kennedy CM, Turcea AM, Bradley CS. Prevalence of vulvar and vaginal symptoms during pregnancy and the puerperium. *Int J Gynaecol Obstet* 2009 June ;105(3):236–239

LeClair CM, Goetsch MF, Korcheva VB, Anderson R, Peters D and Morgan TK. Differences in Primary Compared With Secondary Vestibulodynia by Immunohistochemistry. *Obstet Gynecol* 2011 June ; 117(6): 1307–1313

Lee M, Morgan M, Rapkin A. Clitoral and vulvar vestibular sensation in women taking 20 mcg ethinyl estradiol combined oral contraceptives: A preliminary study. *J Sex Med* 2011;8: 213-8

Lee CK, Lee EY, Kim YG, Mun SH, Moon HB, Yoo B. Alpha-lipoic acid inhibits TNF-alpha induced NF-kappa B activation through blocking of MEKK1-MKK4-IKK signaling cascades. *Int Immunopharmacol* 2008;8(2):362-70

Lim JY, Park CK, Hwang SW. Biological Roles of Resolvins and Related Substances in the Resolution of Pain. *Biomed Res Int.* 2015;2015:830930. doi: 10.1155/2015/830930. Epub 2015 Aug 3.

Memeo A, Loiero M. Acido Tioctico e Acetil-L-Carnitina nel Trattamento del Dolore Sciatico Causato da Ernia del Disco Uno studio di confronto, randomizzato, in doppio cieco. *Clin Drug Invest* 2008;28 (8): 1-500.

Letizia Mauro G(1), Cataldo P, Barbera G, Sanfilippo A. α -Lipoic acid and superoxide dismutase in the management of chronic neck pain: a prospective randomized study. *Drugs R D.* 2014 Mar;14(1):1-7. doi: 10.1007/s40268-013-0035-3.

Marinoff SC, Turner ML. Vulvar vestibulitis syndrome. *Dermatologic Clinics.* 1992;10: 435-444

McKay E, Kaufman RH, Doctor U, Berkova Z, Glazer H, Redko V. Treating vulvar vestibulitis with electromyographic biofeedback of pelvic floor musculature. *J Reprod Med* 2001;46:337-342

Milligan ED, Twining C, Chacur M, Biedenkapp J, O'Connor K, Poole S, Tracey K, Martin D, Maier SF, Watkins LR. Spinal glia and proinflammatory cytokines mediate mirror-image neuropathic pain in rats. *J Neurosci.* (2003 Feb);23(3):1026-40

Milligan ED, Watkins LR. Pathological and protective roles of glia in chronic pain. *Nat Rev Neurosci.* (2009 Jan);10(1):23-36. Review.

Moini H, Tirosh O, Park YC, Cho KJ, Packer L: R-alpha-lipoic acid action on cell redox status, the insulin receptor, and glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes. *Arch Biochem Biophys* 2002, 397(2):384-391

Moyal-Barracco M, Lynch PJ. 2003 ISSVD terminology and classification of vulvodynia: a historical perspective. *J Reprod Med* 2004;49:772-7

Murina F, Bianco V, Radici G, Felice R, Signaroldi M. Electrodiagnostic functional sensory evaluation of patients with generalized vulvodynia: a pilot study. *J Low Genit Tract Dis* 2010 Jul;14(3):221-224

Murina F, Graziottin A, Felice R, Radici GL, Di Francesco S. The Recurrent Vulvovaginal Candidiasis: Proposal of a Personalized Therapeutic Protocol. 2011 ISRN Obstetrics and Gynecology, ID 806065

- Murina F, Tassan P, Roberti P, Bianco V. Treatment of vulvar vestibulitis with submucous infiltrations of methylpred methylprednisolone and lidocaine. An alternative approach. *J Reprod Med* 2001; 46:713-716
- Murina F(1), Graziottin A(2), Felice R(3), Gambini D(2). Alpha Lipoic Acid Plus Omega-3 Fatty Acids for Vestibulodynia Associated With Painful Bladder Syndrome. *J Obstet Gynaecol Can.* 2017 Mar;39(3):131-137.
- Murina F, Bianco V, Radici G. Transcutaneous electrical nerve stimulation to treat vestibulodynia: a randomised controlled trial. *BJOG* 2008;115:1165-1170.
- Nakamoto K, Nishinaka T, Ambo A, Mankura M, Kasuya F, Tokuyama S. Possible involvement of β -endorphin in docosahexaenoic acid-induced antinociception. *Eur J Pharmacol.* 2011 Sep;666(1-3):100-4.
- Nebbioso M, Scarsella G, Tafani M, Pescosolido N. Mechanisms of ocular neuroprotection by antioxidant molecules in animal models. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2013 Jan-Mar;27(1):197-209.
- Narita M, Yoshida T, Nakajima M, Narita M, Miyatake M, Takagi T, Yajima Y, Suzuki T. Direct evidence for spinal cord microglia in the development of a neuropathic pain-like state in mice *J Neurochem.* 2006 Jun;97(5):1337-48. Epub 2006 Apr 10.
- Nguyen RH, Swanson D, Harlow BL. Urogenital infections in relation to the occurrence of vulvodynia. *J Reprod Med.* 2009;54(6):385-392
- Nishida, C., R. Uauy, S. Kumanyika, and P. Shetty. 2007. The Joint WHO/FAO Expert Consultation on diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: process, product and policy implications. *Public Health Nutrition* . 7:245– 250. doi:10.1079/PHN2003592.
- Packer L, Kraemer K, Rimbach G: Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. *Nutrition* 2001, 17:888–895
- Polpeta NC, Giralgo PC, Teatin Juliato CR, Gomes Do Amaral RL, Moreno Linhares I, Romero Leal Passos M. Clinical and therapeutic aspects of vulvodynia: the importance of physical therapy. *Minerva Ginecol* 2012;64:437-45
- Padmalayam I, Hasham S, Saxena U, Pillarisetti S: Lipoic acid synthase (LASY): a novel role in inflammation, mitochondrial function, and insulin resistance. *Diabetes* 2009, 58:600–608.
- Pukall CF, Strigo IA, Binik YM, Amsel R, Khalife S, Bushnell MC. Neural correlates of painful genital touch in women with vulvar vestibulitis syndrome. *Pain* 2005;115:118-127
- Pukall CF, Goldstein AT, Bergeron S, Foster D, Stein A, Kellogg-Spadt S, Bachmann G. Vulvodynia: Definition, Prevalence, Impact, and Pathophysiological Factors. *J Sex Med.* 2016 Mar;13(3):291-304.
- Ramirez De Knott HM, McCormick TS, Do SO, Goodman W, Ghannoum MA, Cooper K D, Nedorost ST. Cutaneous hypersensitivity to *Candida albicans* in idiopathic vulvodynia. *Contact Dermatitis* 2005;53(4):214-218

Raghavendra V, Tanga FY, DeLeo JA. Complete Freund's adjuvant-induced peripheral inflammation evokes glial activation and proinflammatory cytokine expression in the CNS. *Eur J Neurosci*. 2004 Jul;20(2):467-73

Reissing ED, Brown C, Lord MJ, Binik YM, Khalifé S. Pelvic floor muscle functioning in women with vulvar vestibulitis syndrome. *J Psychosom Obstet Gynaecol* 2005 Jun;26(2):107-13

Reed LJ: From lipoic acid to multi-enzyme complexes. *Protein Sci* 1998, 7(1):220–224

Reed BD, Caron AM, Gorenflo DW. Treatment of vulvodynia with tricyclic antidepressants: efficacy and associated factors. *J Low Genit Tract Dis* 2006;10:245-251

Rogalski MJ, Kellog-Spadt S, Hoffmann AR, Fariello JY, Whitmore KE. Retrospective chart review of vaginal diazepam suppository use in high-tone pelvic floor dysfunction. *Int Urogynecol J* 2010;21:895-899

Ruessmann HJ Switching from pathogenetic treatment with alpha-lipoic acid to gabapentin and other analgesics in painful diabetic neuropathy: a real-world study in outpatients *Diabetes Complications*. 2009 May-Jun;23(3):174-7

Schwartz ES, Kim HY, Wang J, Lee I, Klann E, Chung JM, Chung K.. Persistent pain is dependent on spinal mitochondrial antioxidant levels. *J Neurosci* 2009 Jan; 29(1):159-68.

Sobel JD. Vulvovaginal candidiasis. *The Lancet* 2007; 369(9577):1961–1971 Shay KP, Moreau RF, Smith EJ, Smith AR, Hagen TM: Alpha-lipoic acid as a dietary supplement: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Biochim Biophys Acta* 2009, 1790(10):1149–1160

Sumida, C., R. Graber, and E. Nunez. 1993. Role of fatty acids in signal transduction: Modulators and messengers. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* . 48:117– 122. doi:10.1016/0952-3278(93)90019-S.

Stockdale CK, and Lawson HW. 2013 Vulvodynia Guideline Update. *J Low Genit Tract Dis* 2014;18(2): 93-100

Szelag M, Mikulski D, Molski M: Quantum-chemical investigation of the structure and the antioxidant properties of α -lipoic acid and its metabolites. *J Mol Model* 2012,18:2907–2916.

Tan EC, Bahrami S, Kozlov AV, Kurvers HA, Ter Laak HJ, Nohl H, Redl H, Goris RJ.. The Oxidative Response in the Chronic Constriction Injury Model of Neuropathic Pain. *J Surg Res* 2009;152:84-8.

Tommola P, Unkila-Kallio L, Paavonen J. Surgical treatment of vulvar vestibulitis: a review. *Acta Obstet Gynecol* 2010;89:1385-95

Tikka TM, Koistinaho JE Minocycline provides neuroprotection against N-methyl-D-aspartate neurotoxicity by inhibiting microglia. *J Immunol.* 2001 Jun 15;166(12):7527-33.

Tilley, S.L., T.M. Coffman, and B.H. Koller. 2001. Prostaglandins and their precursors Mixed messages :modulation of inflammation and immune responses by prostaglandins and thromboxanes. *Journal of Clinical Investigation .* 108:15– 23.

Tympanidis P, Terenghi G, Dowd P. Increased innervation of the vulval vestibule in patients with vulvodynia. *Br J Dermatol* 2003;148:1021–7

Ting AY, Blacklock AD and Smith PG. Estrogen Regulates Vaginal Sensory and Autonomic Nerve Density in the Rat. *Biol of Reprod* 2004;71:1397-1404

Tokuyama S, Nakamoto K. Unsaturated fatty acids and pain. *Biol Pharm Bull.* 2011;34(8):1174-8.

Ventolini G Vulvar pain: Anatomic and recent pathophysiologic considerations. *Clin Anat.* 2013 Jan;26(1):130-3. doi: 10.1002/ca.22160. Epub 2012 Sep 5.

Weiner HL, Selkoe DJ. Inflammation and therapeutic vaccination in CNS diseases. *Nature.* 2002 Dec 19-26;420(6917):879-84

Xie Y, Shi L, Xiong X, Wu E, Veasley C, Dade C. Economic burden and quality of life of vulvodynia in the United States. *Curr Med Res Opin* 2012;28:601-8

Xu ZZ, Zhang L, Liu T, Park JY, Berta T, Yang R, Serhan CN, Ji RR Resolvins RvE1 and RvD1 attenuate inflammatory pain via central and peripheral actions. *Nat Med.* 2010 May;16(5):592-7

Zakrzewska JM, Forssell H, Glenny AM. Interventions for the treatment of burning mouth syndrome. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2005, Issue 1. Art. No.: CD002779.

Ziegler D(1), Nowak H, Kempler P, Vargha P, Low PA. Treatment of symptomatic diabetic polyneuropathy with the antioxidant alpha-lipoic acid: a meta-analysis. *Diabet Med.* 2004 Feb;21(2):114-21

Ziegler D, Ametov A, Barinov A, Dyck PJ, Gurieva I, Low PA, Munzel U, Yakhno N, Raz I, Novosadova M, Maus J, Samigullin R.. Oral treatment with alpha-lipoic acid improves symptomatic diabetic polyneuropathy: the SYDNEY 2 trial. *Diabetes Care.* 2006;29(11):2365-2370