

COMPENDIUM DEGLI STUDI SCIENTIFICI 2026

Elettroporazione in Ginecologia





Compendium Ev Plus 2026

Sommario

COMPENDIUM DEGLI STUDI SCIENTIFICI 2026	4
Elettroporazione in Ginecologia	4
Premessa.....	4
Elettroporazione nel trattamento del dolore pelvico	6
L'elettroporazione vaginale nella terapia della vulvodinia localizzata al vestibolo (vestibolodinia) Studio pilota	7
L'Elettroporazione Vaginale: integrazione ed innovazione nel trattamento di patologie ginecologiche complesse	12
Transmucosal delivery of macromolecules using vaginal electroporation to treat vestibulodynia: A pilot study.....	15
Transmucosal delivery of cannabidiol using vestibular electroporation in patients with vestibulodynia: a randomized, blinded prospective trial	21
Elettroporazione nel trattamento della sindrome genitourinaria associata alla menopausa (GSM).....	28
L' elettroporazione vaginale (EPV®) nel trattamento dei disturbi vaginali della menopausa: studio pilota	29



Compendium Ev Plus 2026

COMPENDIUM DEGLI STUDI SCIENTIFICI 2026

Elettroporazione in Ginecologia

Premessa

Un tessuto biologico è costituito da diversi strati di cellule, che hanno proprietà elettriche differenti dovute alla conformazione delle membrane: la loro geometria, il contenuto d'acqua, lo stato fisiologico. Queste differenze si riflettono sulle proprietà elettriche di ogni strato, pertanto non sempre i farmaci, anche altamente avanzati, riescono a raggiungere il loro bersaglio ma necessitano di un campo elettrico o di una siringa per essere veicolati all'interno dei tessuti.

Introduzione

L'elettroporazione è un fenomeno biofisico mediante il quale l'applicazione di campi elettrici esterni pulsati determina una permeabilizzazione temporanea della membrana cellulare attraverso la formazione di nanostrutture transitorie, comunemente definite pori. Tale processo consente di aumentare la permeabilità delle cellule favorendo la veicolazione intracellulare, in modo controllato e mirato, di sostanze attive, molecole funzionali e principi farmacologici.

Nel presente *compendium* sono raccolti gli studi clinici e le pubblicazioni scientifiche che hanno documentato l'impiego dell'elettroporatore EV Plus Santec nella veicolazione di sostanze attive e funzionali, con particolare attenzione alle applicazioni in ambito biomedico.

È importante sottolineare che l'elettroporazione rappresenta un fenomeno biofisico ampiamente studiato e consolidato nella comunità scientifica internazionale, con applicazioni documentate fin dagli anni '80 in numerosi settori, tra cui la biologia cellulare, la ricerca oncologica, la terapia genica e la somministrazione mirata di farmaci. Le evidenze scientifiche relative agli utilizzi dell'elettroporazione in ambiti diversi da quello ginecologico sono pertanto già ampiamente disponibili e facilmente reperibili nei principali database scientifici.

L'obiettivo specifico di questo compendium è quello di raccogliere e organizzare le pubblicazioni nelle quali è stato utilizzato esclusivamente il dispositivo EV Plus Santec, precedentemente commercializzato con il nome BlueMoon, successivamente acquisito da Santec.

La realizzazione di questo documento nel 2026 si inserisce in un più ampio programma di ricerca finalizzato alla valutazione delle potenzialità dell'EV Plus come piattaforma tecnologica per la veicolazione di terapie innovative in ambito ginecologico, esplorandone le possibili applicazioni in differenti condizioni cliniche.

Santec conferma il proprio impegno nella ricerca scientifica, promuovendo lo sviluppo tecnologico attraverso un approccio fondato sul rigore metodologico, sulla qualità delle evidenze prodotte e sul rispetto dei principi etici che guidano la ricerca biomedica.

Elettroporazione nel trattamento del dolore pelvico



L'elettroporazione vaginale nella terapia della vulvodinia localizzata al vestibolo (vestibolodinia) Studio pilota

F.Murina¹

1. Servizio di Patologia Vulvare-Osp.V.Buzzi-ICP-Università di Milano

Studio Concluso Novembre 2018

Introduzione

L'eziologia della vestibulodinia (VBD) non è ancora pienamente nota. Diversi fattori causali sono stati proposti, ed un ruolo rilevante è rappresentato dall'infiammazione neurogenica con conseguente sensibilizzazione periferica e centrale. Non esiste un trattamento standard della malattia, e pochi studi randomizzati e controllati sono stati effettuati. Le raccomandazioni sono a favore di un approccio multidimensionale, concentrandosi sulla gestione del dolore e sul ripristino di una corretta funzione del pavimento pelvico. La terapia farmacologica (topica od orale) è un pilastro della gestione della VBD. L' amitriptilina è un antidepressivo triciclico che tratta efficacemente molte condizioni di dolore cronico neuropatico. La sua attività nella modulazione del dolore include l'inibizione centrale della ricaptazione neuronale dei neurotrasmettitori e nell' inibizione dei canali del sodio. Sebbene la somministrazione orale di amitriptilina è il gold standard per il trattamento del dolore neuropatico e spesso viene utilizzata nella VBD, gli effetti collaterali sistemici quali ipotensione posturale, sedazione, e gli effetti anticolinergici ne limitano il raggiungimento delle dosi terapeutiche. L'uso a lungo termine della lidocaina topica è stato suggerito come una terapia specifica per la VBD, con il rationale che l'applicazione regolare di lidocaina interrompe gli impulsi dolorosi e riduce l'amplificazione del dolore. L'uso di anestetici locali a lungo termine può causare prurito o sensibilizzazione, con grave reazione e dermatite da contatto, in particolare con prodotti come la benzocaina. La stimolazione elettrica transcutanea (TENS) con correnti bifasiche di frequenze tra 2 e 100 Hz e 50-100 micros di durata dell'impulso, è stata ampiamente utilizzata nel trattamento di VBD con un'elevata efficacia (75%) superiore al placebo. L'elettroporazione (EP) è la variazione strutturale transitoria delle membrane cellulari a seguito dell'applicazione di impulsi ad alta tensione. La sua applicazione cutanea ha dimostrato di aumentare il rilascio transdermico di farmaci con diverso ordine di grandezza. Inoltre, l' EP amplia la gamma di farmaci (macromolecole, lipofile o idrofile, cariche o molecole neutre) che possono essere rilasciate per via trans dermica. Obiettivo del nostro studio è stato quello di valutare l'efficacia

dell'EP applicata tramite sonda vaginale, utilizzando un mix di due farmaci: amitriptilina + lidocaina, in pazienti con una diagnosi di VBD. Le premesse sono quelle di raggiungere l'area di interesse clinico con una concentrazione più elevata di principi attivi, superiore alla somministrazione sistemica ma con un minor numero di effetti collaterali.

Materiali e Metodi

Le pazienti arruolate nello studio sono state 17. Tutte avevano una diagnosi di VBD caratterizzata dalla coesistenza delle seguenti condizioni: anamnesi di dolore vulvare cronico alla stimolazione od al tentativo di penetrazione, ipersensibilità al tocco vestibolare con l'apice di un cotton e l'assenza di manifestazioni obiettive clinicamente evidenziabili. Sono state escluse le donne in gravidanza, portatrici di pacemaker, con infezioni vulvo-vaginali ed affette da patologie neurologiche. Le pazienti arruolate hanno compilato un questionario riguardante la loro situazione vulvo-vaginale, la salute in generale, caratteristiche demografiche ed alcune domande inerenti fattori psicosessuali.

Successivamente ogni paziente è stata sottoposta ad esame obiettivo ginecologico previa valutazione sintomatologica vulvo-vaginale, riguardante in dettaglio:

- Scala analogica visiva del dolore (VAS) graduata da 0 a 10 (0=assenza dolore, 10=massimo dolore)
- Dispareunia graduata tramite score di Marinof (0=assente; 1=lieve; 2=dolore più intenso con riduzione frequenza dei rapporti; 3=penetrazione pressoché improponibile).

Le pazienti, inoltre, sono state sottoposte ad una valutazione elettrodiagnostica sensoriale della conduzione nervosa delle terminazioni vestibolari attraverso la misurazione della minima soglia di percezione dello stimolo sensitivo (CPT) vestibolare. Il valore della CPT è stato misurato attraverso la strumentazione Neurometer (Neurotron, Inc., Baltimore, MD), stimolatore elettrodiagnostico che emette stimoli di corrente alternata alla frequenza di 2,000 Hz (specifico per le fibre mieliniche A β), 250 Hz (specifico per le fibre A δ) e 5 Hz (specifico per le fibre C) a livelli d'intensità da 0.001 a 9.99 mA.

Ogni donna inserita nello studio ha ricevuto una sessione settimanale di EP vaginale per un totale di otto sedute attraverso una sonda vaginale in plastica (Bluemoon-Italia) con due anelli metallici trasversali come elettrodi collegata ad un'unità calibrata per l'EP (Bluemoon-Italia). La nuova sonda è stata realizzata con un alloggiamento per una siringa da 2,5 ml, dove è stato posto il prodotto da veicolare nella mucosa vestibolare. Nella siringa monouso è stato inserito un mix di farmaci costituito da: amitriptilina alla dose di 60 mg e lidocaina al dosaggio di 40 mg, il tutto dissolto in un gel conduttore. L'unità di EP è stata settata con i seguenti parametri TENS, in accordo a precedenti studi che hanno utilizzato la tecnica nella terapia della VBD: - I fase: frequenza di 100 Hz - durata impulso 50 μ s - durata 15 min. - II fase: frequenza di 5 Hz - durata impulso 100 μ s - durata 15 min. Le pazienti sono state rivalutate a fine trattamento sia dal punto di vista sintomatologico (VAS e score di Marinof della dispareunia), che obiettivamente tramite ri-valutazione della CPT.

Risultati

Tutte le pazienti arruolate hanno concluso il protocollo di cura, e nessuna è stata persa al follow-up. Le caratteristiche delle pazienti studiate sono riassunte nella **Tab. 1**.

Table 1: Characteristics of the Study Population

Age, mean (range) y	32.5 (20-48)
Nulliparous, n (%)	15/17 (88)
Duration of symptoms, mean (range), mo	27.5 (6-80)
VAS, mean (SD)	7.4 (1.2)
Marinoff dyspareunia scale, mean (SD)	2.3 (1.0)

La VAS si è ridotta da un valore basale di 7.4 (1.2) ad uno post terapia di 6.3 (1.8), e malgrado la variazione apparentemente non di ampia entità questa si è dimostrata statisticamente significativa (p 0.05). Anche la dispareunia ha subito una riduzione, passando dal valore basale di 2.3 (1.0) ad uno post-cura di 1.8 (1.1) senza però una significatività statistica (**Tab.2**).

Table 2: Post treatments score of VAS (Visual Analogue Scale) and Marinoff dyspareunia scale

	n. 17 Patients	p
VAS, MEAN (SD)	6.3 (1.8)	0.05
MARINOFF DYSPAREUNIA SCALE, MEAN (SD)	1.8 (1.1)	NS

La **Tab.3** riassume i valori della CPT basali e post-terapia. La maggior variazione ha riguardato la sottopopolazione delle fibre nocicettive C con il 24.4% di riduzione della sensibilità. Nel gruppo di fibre A β ed A δ la riduzione percentuale è stata rispettivamente del 15.5% e 20.4%. Non ci sono stati effetti collaterali rilevanti che hanno indotto la sospensione del trattamento; un lieve bruciore transitorio post-terapia si è avuto solo nel 7% circa dei casi, ed una transitoria sedazione nel 10% circa delle pazienti.

Table 3: Results of CPT measurement (100=1.0mA) at 3 selected stimulation frequencies before and after therapy. Data are expressed as means (Hz= cycles per second).

n. 17 Patients	2000 Hz (Aβ fibers)	250 Hz (Aδ fibers)	5 Hz (C fibers)
Basal	442.20	201.50	90.80
After Therapy	523.40	253.30	120.20
Difference, %	15.50	20.40	24.40

Discussione

In sintesi, possiamo porre in risalto le seguenti considerazioni:

Nella PVD, un dato fisiopatologico unanime è la proliferazione delle terminazioni nervose nella mucosa vestibolare, considerata una reazione aspecifica di precedenti fattori scatenanti mucosi, come infezioni, traumi e fattori ormonali . Un altro fattore osservato nelle donne con

questa malattia è la disfunzione dei muscoli del pavimento pelvico, contratti attorno alla parte distale della vagina, probabilmente come reazione al dolore persistente.

L'amitriptilina è il farmaco orale maggiormente utilizzato, sebbene non è ben chiara la sua reale utilità nella terapia della VBD. I dosaggi comunemente impiegati sono variabili (30-100 mg) come pure variabile è la percentuale di risposta, che può avere un range tra 30-60%. Ciò deriva, principalmente, dalla difficoltà nel raggiungimento di un ottimale soglia terapeutica derivante dall'elevato numero di drop-out conseguente alla comparsa di effetti collaterali.

La lidocaina, anestetico locale, è stato impiegato oltre che come topico locale anche in infiltrazioni del nervo pudendo a vari livelli con la finalità di ridurre l'attività ectopica neuronale, alla base dell'allodinia ed iperalgesia, elementi peculiari sia delle sindromi da dolore neuropatico che della VBD.

L'approccio multimodale alla VBD è quello ritenuto essere oggi ottimale, ed in quest'ottica associare la TENS all'uso di farmaci può rivelarsi una strategia vincente. -L'EP consente di abbinare l'elettrostimolazione alla veicolazione tran mucosa di macromolecole anche in elevate concentrazioni, che si concentrano nel sito di scatenamento del dolore, il vestibolo vaginale, riducendo l'incidenza di effetti collaterali.

I nostri risultati suggeriscono l'efficacia della tecnica. I dosaggi di amitriptilina e lidocaina impiegati sono stati elevati e nessuna paziente ha sospeso il trattamento per la comparsa di effetti collaterali, e l'effetto sinergico della TENS ha ulteriormente contribuito al "reset" del sistema nocicettivo alterato.

La dimostrazione dell'assorbimento ed azione dei farmaci a seguito della veicolazione tramite EP vaginale, è dimostrato dai valori della CPT. La media di riduzione della sensibilità delle fibre nervose vestibolari del 20% circa, è prova dell'effetto obiettivo del binomio TENS-farmaci nella gestione della disfunzione del sistema di percezione del dolore propria della VBD.

La variazione non elevata dei sintomi potrebbe essere correlata alla frequenza ridotta (1 appl./settimana) ed al numero relativamente basso di sedute di EP vaginale. Infatti, precedenti studi sulla TENS hanno portato a risultati brillanti con una media di applicazioni pari a circa 20. Inoltre, le pazienti reclutate avevano già utilizzato precedenti terapie con efficacia limitata o transitoria, portando a definirle come "difficili".

Alla luce di quanto sopra descritto l'EP vaginale può definirsi come tecnica efficace e promettente nella gestione della VBD, sebbene ulteriori studi sono necessari per definire il numero e la frequenza delle sedute necessarie, come pure il mix di farmaci da utilizzare. Inoltre, ciò pone le basi per l'utilizzo della tecnica in altre problematiche vulvo-vaginali che necessitano l'uso di farmaci localmente.

Bibliografia

1. Tympanidis P, Terenghi G, Dowd P. Increased innervation of the vulval vestibule in patients with vulvodynia. *Br J Dermatol* 2003;148(5):1021-7.

Compendium Ev Plus 2026

2. Groysman V. Vulvodynia: new concepts and review of the literature. *Dermatol Clin.* 2010 Oct;28(4):681-96.
3. Graziottin A , Murina F. *Clinical Management of Vulvodynia - Tips and Tricks.* Milan: Springer Verlag; 2011:61-62. - Haefner HK , Collins ME, Davis GD, Edwards L, Foster DC, Hartmann ED, et Al. The vulvodynia guideline. *J Low Genit Tract Dis.* 2005;9(1):40-51
4. Zolnoun, D.A., Hartmann, K.E. and Steege, J.F., Overnight 5% lidocaine ointment for treatment of vulvar vestibulitis, *Obstet Gynecol*, 102 (2003) 84-7.
5. Murina, F., Bianco, V., Radici, G., Felice, R., Di Martino, M. and Nicolini, U., Transcutaneous electrical nerve stimulation to treat vestibulodynia: a randomized controlled trail, *BJOG*, 115 (2008) 1165-70.
6. A.-R. Denet et al. Skin electroporation for transdermal and topical delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* 56 (2004) 659–674 - Lombry C., Dujardin V. *Transdermal Drug Delivery of Macromolecules Using Skin Electroporation.* *Pharmaceutical Research*, Vol. 17, No. 1, 2000

L'Elettroporazione Vaginale: integrazione ed innovazione nel trattamento di patologie ginecologiche complesse

Filippo Murina¹; Raffaele Felice¹

1. Servizio di Patologia Vulvare-Osp.V. Buzzi – ICP - Università di Milano

Minerva Ginecologica Aprile 2014



Introduzione

L'elettroporazione (EP) è una tecnica di terapia fisica caratterizzata da una variazione transitoria della membrana cellulare conseguente all'applicazione di impulsi ad alto voltaggio, che consentono la veicolazione intracellulare di sostanza ad elevato peso molecolare. L'applicazione cutanea dell'EP si è dimostrata efficace e facilmente utilizzabile, anche in sedi corporee contraddistinte da un consistente strato corneo, tanto da superare i limiti di penetrabilità di tecniche quali la ionoforesi o gli ultrasuoni. La veicolazione transdermica consente di ottenere un'elevata biodisponibilità del principio attivo nella sede dove si vuole esercitare il massimo effetto, e nella riduzione di effetti collaterali conseguente alla somministrazione sistemica dei farmaci. Gli elementi determinanti l'elevata veicolazione di principio attivo sono principalmente il peso molecolare delle sostanze che devono oltrepassare la barriera dermica, e le caratteristiche del reservoir all'interno del quale queste vengono disciolte. L'EP si è dimostrata non avere un cut-off di peso molecolare, consentendo il trasporto di molecole anche oltre i 40 kDa (es. buprenorfina e fentanyl). Nell'EP vengono applicati degli impulsi elettrici che generano un potenziale di membrana tra 0.5-1.0 V che ha durata tra 10 μ s e 10 ms. Questa reversibile caduta di potenziale trans-membrana della cellula induce la formazione di "pori" che inducono la facilitazione nel passaggio molecolare. Il dispositivo di elettroporazione EPV® (Blue-Moon® Italia), è dotato di due applicatori specifici a uso vaginale, uno standard e uno ridotto da utilizzare in caso di sub-stenosi vaginale. Questi sono composti da una struttura in materiale plastico opportunamente studiata per favorire l'introduzione e comprendente l'alloggiamento di una siringa standard da 2.5 e 1 ml, dove viene inserito il prodotto da veicolare disciolto in un gel conduttore.

Gli impulsi di EP sono generati su due anelli di acciaio inox chirurgico, posizionati a una distanza ottimale per investire un'ampia zona senza la necessità di muovere l'applicatore. La veicolazione di principi attivi in sede vestibolo-vaginale è resa ancora più agevole dal ridotto spessore dello strato epiteliale, che consente di raggiungere organi pelvici adiacenti, sovente interessati da sindromi dolorose di difficile gestione terapeutica. I farmaci che l'EPV® può veicolare sono molteplici, ma soprattutto è possibile combinare più principi attivi a target terapeutico differente, creando una sorta di "infiltrazione virtuale" innocua, riproducibile ed in grado di garantire l'elevata biodisponibilità del farmaco dove è necessaria la sua massima azione. Inoltre, l'EPV® appare tecnica interessante, versatile ed innovativa per la veicolazione

di principi attivi nella sede vestibolo e vaginale, aree dove in prevalenza vengono utilizzati prodotti topici. La penetrazione trans mucosa incrementa la persistenza del principio attivo con un effetto “simil depot”, in grado di svolgere un’azione propedeutica nell’impiego di prodotti somministrati per via topica.

Impieghi in ginecologia. Una delle più importanti ed innovative applicazioni di EPV® è rappresentata dalla sindrome da dolore pelvico cronico, e dalle condizioni ad esso correlate. Il dolore pelvico cronico (CPP) è definibile come dolore non derivante da neoplasie maligne riferito ad organi e strutture della pelvi, sia femminile che maschile. Il CPP è caratterizzato da un impatto negativo sulla sfera cognitiva, comportamentale sessuale ed emotiva. Nella donna il CPP trova una classificazione appropriata come persistente o ricorrente dolore pelvico associato a sintomi riferibili al tratto genito-urinario inferiore, con disfunzioni intestinali e/o ginecologiche. All’origine del CPP si evidenzia una condizione di disregolazione qualitativa e quantitativa delle afferenze nocicettive provenienti dall’area pelvica. Ripetuti stimoli pelvici di varia natura (infiammatori, infettivi, ormonali, traumatici, etc) possono provocare la progressiva attivazione sincrona di quote crescenti di fibre nervose nocicettive, con una conseguente condizione di ipereccitabilità centrale, tendente all’auto mantenimento (neural-axial central-sensitization). I bersagli potenziali della sindrome da CPP sono rappresentati dagli organi pelvici, dalle funzioni da questi espletate e dalla muscolatura della pelvi che svolge funzione di supporto e di coordinamento funzionale. Diverse definizioni vengono usate per identificare la sindrome da CPP, in relazione all’organo che è più sintomatico ed alla funzione che risulta più alterata: sindrome della vescica dolorosa, uretrodinia, vulvodinia e sindrome da dolore della muscolatura del pavimento pelvico. La terapia della sindrome da CPP deve essere multimodale, personalizzata e finalizzata al “reset” del sistema nocicettivo alterato, ed alla modulazione dei processi infiammatori di tipo neurogenico. L’EPV® si è dimostrata efficace nella terapia della sindrome da CPP in uno studio clinico utilizzando un mix di principi attivi rappresentato da lidocaina+tramadolo+diazepam; le 20 pazienti trattate avevano tutte una diagnosi di CPP caratterizzata dalla coesistenza di almeno due delle condizioni organo specifiche proprie della sindrome. Dopo otto sedute settimanali di EPV® la scala analogica visiva del dolore (VAS) si è ridotta da un valore basale di 7.4 ad uno post terapia di 2.3, in assenza di effetti collaterali tali da interrompere il ciclo completo di trattamento. Nella sindrome da CPP è possibile veicolare anche principi attivi ad azione antineuropatica quali l’amitriptilina, che sovente per via sistemica comporta un’elevata incidenza di drop-out per la comparsa di effetti collaterali. I principi attivi possono essere utilizzati anche ad elevato dosaggio compatibilmente con la capienza del reservoir, grazie alla possibilità di concentrarli dove serve con una forte limitazione dell’assorbimento sistemico (**Tab.1**).

Tabella 1: riassunto schematico dei principi attivi da veicolare con dosaggio e indicazioni terapeutica

Principio attivo da veicolare	Dosaggio medio	Principale indicazione
Amitriptilina	20-30 mg (10-15 gtt)	Dolore pelvico cronico

		Vulvodinia
Tramadolo	50 mg (1ml)	Dolore pelvico cronico
Ketorolac	20 mg/1 ml	Vulvodinia
Lidocaina	20 mg /1 ml	Dolore pelvico cronico
		Vulvodinia
		Dispareunia post-parto
Estriolo gel	50 µg	Sindrome Genito Urinaria Menopausa
Ac.ialuronico gel	3 mg	Sindrome Genito Urinaria Menopausa
Diazepam	5 mg/1 ml	Dolore pelvico cronico
		Vulvodinia
		Vaginismo

La sindrome genitourinaria della menopausa (genitourinary syndrome of menopause,GSM) é definita come un insieme di segni e sintomi associati con la riduzione degli estrogeni circolanti che determinano cambiamenti a livello vaginale, vulvare, dell'uretra e della vescica. La sindrome include sintomi genitali quali la secchezza vaginale, il bruciore e l'irritazione, sintomi della sfera sessuale come la mancanza di lubrificazione e la dispareunia e sintomi urinari di urgenza, disuria e infezioni ricorrenti delle vie urinarie. I cambiamenti anatomici in menopausa includono l'aumentato turnover del collagene, la riduzione dell'elastina, l'aumento del tessuto connettivo e la riduzione del flusso sanguigno a livello vaginale con conseguente assottigliamento dell'epitelio. Principale presidio per agire sul trofismo e sulla nocicezione vestibolare è il ricorso ad una sostituzione di tipo estrogenico. L'azione degli estrogeni si può realizzare direttamente anche sull'inibizione delle terminazioni nervose nocicettive vestibolo-vaginali. Interessanti evidenze hanno dimostrato come una corretta terapia ormonale sostitutiva sistemica può essere insufficiente nel ridurre la dispareunia fino al 25% dei casi. Si è dimostrato in uno studio pilota in 15 pazienti in menopausa da almeno 1 anno, lamentanti bruciore e secchezza vaginale, come la veicolazione tramite EPV® di 50 microgr. di estriolo in gel complessato a 3 g di ac.ialuronico 0.2% in gel, sia efficace nel ridurre il bruciore vulvo-vaginale e la dispareunia, in un ciclo di 8-10 sedute. Ciò apre nuovi scenari nel trattamento della GSM in protocolli integrati e sinergici con terapie topiche, e nuove tecniche quali il laser frazionato vaginale.

Bibliografia essenziale.

Denet, et Al. - Skin electroporation for transdermal and topical delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* -2004-56;659– 674.

Graziottin, F. Murina - *Vulvodynia: tips and tricks*. Ed. Springer, 2011.

F. Murina et Al. *Transmucosal delivery of macromolecules using vaginal electroporation to treat vestibulodynia: a pilot study*.-*Pain and Therapies*-2015 –In press

F. Murina. *L'Elettroporazione vaginale: un nuovo approccio terapeutico in ginecologia*- *Minerva ginecologica*-4/2014

Transmucosal delivery of macromolecules using vaginal electroporation to treat vestibulodynia: A pilot study

Filippo Murina*, Raffaele Felice, Stefania di Francesco and Silvia Oneda

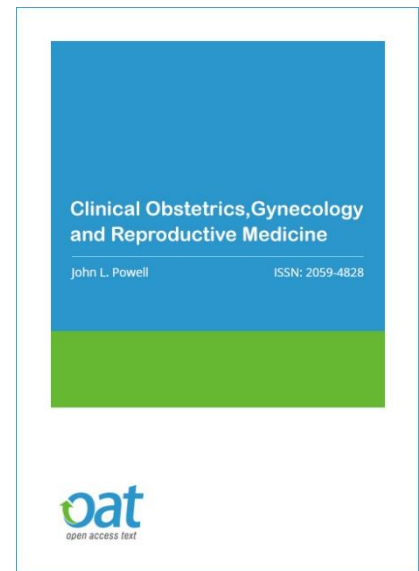
Lower Genital Tract Disease Unit, V. Buzzi Hospital–University of Milan, Milan, Italy

Clin Obstet Gynecol Reprod Med, Volume 3(5): 1-3

doi: 10.15761/COGRM.1000196

Correspondence to: Filippo Murina M.D.; address: V. Buzzi Hospital, Via Castelvetro 32-Milano, Italy, Tel: +390257995464; E-mail: filippomurina@tin.it

Key words: *vulvodynia, transcutaneous electrical nerve stimulation, electroporation, vestibulodynia, transdermal delivery*



Received: October 02, 2017; Accepted: October 16, 2017; Published: October 19, 2017

Abstract

Background: Provoked vestibulodynia (VBD), is characterized by burning and cutting pain localized to the vulvar vestibule in response to light touch.

Objective: To assess the effectiveness of the electroporation (EP), applied through the vaginal probe using a mix of two drugs: amitriptyline + lidocaine in patients with a diagnosis of VBD.

Method: 17 patients with the diagnosis of VBD received a weekly vaginal EP for a total of eight sessions using the following mixture of drugs: amitriptyline at a dose of 60mg and lidocaine at a dose of 40 mg, all dissolved in a conductive gel. Visual analogue scale (VAS), Marinoff score for dyspareunia, and current perception threshold obtained from the vulvar vestibule were assessed at baseline and at the end of treatment.

Results: The VAS was reduced from a baseline of 7.4 (1.2) to a 6.3 post therapy (1.8), and despite the variation not apparently of large extent was actually statistically significant (p 0.05). Dyspareunia also reduced, from baseline of 2.3 (1.0) to a post- therapy of 1.8 (1.1) without statistical significance. There were no relevant side effects that prompted discontinuation of treatment.

Conclusions: Based on what aforementioned vaginal EP can be defined as an promising technique in the management of VBD. Although further studies are needed to define the number and frequency of sessions required, as well as the mix of drugs to be used.

Introduction

Vulvodynia is a common multifactorial, heterogeneous, and chronic gynecological disorder that affects a large number of women worldwide. It is estimated that the prevalence rate of vulvodynia is 16% in women aged 18 to 64 years, resulting in constant demand for medical care [1]. The predominant form of vulvodynia, provoked vestibulodynia (VBD), is characterized by burning and cutting pain localized to the vulvar vestibule in response to light touch [2]. Etiology for vulvodynia has yet to be established, yet several theories exist. Numerous factors have been proposed and a relevant role appears to be that of a dysfunctional state of the somatosensory system, with a peripheral and central neural sensitization [2]. Vulvodynia may result from peripheral sensitization in the skin, central sensitization in the spinal cord, or both of them. An inflammatory process in the vulvar skin could release a cascade of cytokines that sensitize the nociceptors resulting in a physical increase in the number of nerves. Furthermore, the local sensory pain nerves could become progressively more sensitized, and develop abnormal neuro-secretion with ulterior pain deterioration or persistence [2-3]. There is no standard treatment of the disease, and few randomized controlled trials have been performed [4]. The recommendations are in favor of a multi-dimensional approach, focusing on the management of pain and restoration of proper pelvic floor function. Medical therapy (topical or oral) is a mainstay of the management of VBD [5]. Amitriptyline is a tricyclic antidepressant that effectively treats many conditions of chronic neuropathic pain [6]. It modulates the pain by acting on the central inhibition of neuronal reuptake of neurotransmitters and inhibition of sodium channels. Although oral administration of amitriptyline is the gold standard for the treatment of neuropathic pain and it is often used in the VBD, the systemic side effects such as postural hypotension, sedation, and anticholinergic effects limit the attainment of therapeutic doses. The long-term use of topical lidocaine has been suggested as a specific therapy for VBD, with the rationale that the regular application of lidocaine interrupts the pain signals and reduces the pain amplification [7]. The use of local anesthetics in the long term can cause itching or sensitization, with severe reaction and contact dermatitis, especially with products such as benzocaine [8]. Transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) with biphasic currents of frequencies between 2 and 100 Hz and a pulse duration of 50-100 microsec, has been widely used with a high efficacy (75%) as compared to the placebo in the treatment of VBD [9]. Electroporation (EP) is the transitory structural perturbation of lipid bilayer membranes due to the application of high voltage pulses. Its topical application has been shown to increase the transdermal delivery of drugs with different order of magnitude [10]. In addition, the EP expands the range of drugs (macromolecules, lipophilic or hydrophilic, charged or neutral molecules) that can be delivered transdermally [11]. The aim of our study was to evaluate the effectiveness of the EP applied through the vaginal probe, using a mix of two drugs: amitriptyline + lidocaine in patients with a diagnosis of VBD. The presumption is to reach the area of clinical

interest with a higher concentration of active ingredients, reaching higher concentration than systemic administration but with fewer side effects.

Material and methods

A total of 17 patients were enrolled. All had diagnosis of VBD due to the coexistence of the following conditions: a history of chronic vulval pain elicited by stimulation or attempted intercourse and a positive cotton-swab test, that is tenderness at palpation of the vestibular area with a cotton tip applicator and the absence of any clinically detectable manifestation. Exclusion criteria were pregnancy, cardiac pacemakers, vaginal infections and neurological disorders. The patients completed a questionnaire regarding their vulvovaginal situation, general health, demographic characteristics, and some questions about psychosexual factors. Subsequently, each patient underwent a gynecological examination and evaluation of vulvovaginal symptoms with details concerning:-Visual-analogue scale of pain (VAS) graduated from 0 to 10 (0 = no pain, 10 = maximum pain)-Dyspareunia-graded by Marinof score (0 = absent, 1 = mild, 2 = intense pain with reduced frequency of intercourse, 3 = penetration almost impossible). Patients were also subjected to a sensory electrodiagnostic evaluation of the vestibular nerve conduction by measuring the minimum threshold of perception of a sensory input on the vestibular mucosa (CPT). The CPT values were measured using the Neurometer CPT/C electro diagnostic neurostimulator (Neurotron, Inc., Baltimore,MD), which emits alternating sinusoid waveform current stimuli at frequencies of 2,000 Hz (specific for large, myelinated AA fibers), 250 Hz (specific for AC fibers) and 5 Hz (specific for C fibers), at intensity levels from 0.001 to 9.99 mA. Each woman included in the study received a weekly vaginal EP for a total of eight sessions through a plastic vaginal probe (Bluemoon Italy) with two transversal metal rings as electrodes connected to a unit calibrated for the EP (Bluemoon-Italy). The new probe has been designed with a slot for a 2.5 ml syringe, in which the product to be conveyed in the vestibular mucosa was placed. In the disposable syringe we inserted following mixture of drugs: amitriptyline at a dose of 60mg and lidocaine at a dose of 40 mg, all dissolved in a conductive gel. The EP unit was set with the following parameters of TENS, in agreement with previous studies that have used the technique in the treatment of VBD [9]:- Phase I: 100 Hz - 50 ms- pulse duration for a duration of 15 min.- Phase II: 5 Hz - 100 ms-pulse duration for a duration of 15 min. The patients were re-evaluated at the end of treatment both from symptomatic point of view (VAS and Marinof score of dyspareunia), and objectively through re-evaluation of the CPT.

Results

All the recruited patients completed the treatment protocol, and none were lost during follow-up. The characteristics of the patients studied are summarized in Table 1. The main age of the patients was 32,5 years (20-48 years). Eighty-eight percent of the patients were nulliparous (15/17). If we consider the mean duration of the symptoms was 27,5 months (6-80 months).

Table 1: Characteristics of the study population.

Age, mean (range) y	32.5 (20-48)
Nulliparous, n (%)	15/17 (88)
Duration of symptoms, mean (range), mo	27.5 (6-80)
VAS, mean (SD)	7.4 (1.2)
Marinoff dyspareunia scale, mean (SD)	2.3 (1.0)

VAS: Visual Analogue Scale.

Table 2: Post treatment scores of VAS and Marinoff dyspareunia scale.

	n. 17 Patients	p
VAS, mean (SD)	6.3 (1.8)	0.05
Marinoff dyspareunia scale, mean (SD)	1.8 (1.1)	NS

VAS: Visual Analogue Scale.

Table 3. Results of CPT measurement (100 = 1.0 mA) at 3 selected stimulation frequencies before and after therapy.

n. 17 Patients	2,000 Hz (Aβ fibers)	250 Hz (Aδ fibers)	5Hz (C fibers)
Basal	442,2	201,5	90,8
After therapy	523,4	253,3	120,2
Difference, %	15,5	20,4	24,4

Data are expressed as means (Hz = cycles per second). CPT: Current Perception Threshold.

The VAS was reduced from a baseline of 7.4 (1.2) to a 6.3 post therapy (1.8), and despite the variation not apparently of large extent was actually statistically significant (p 0.05). Dyspareunia also reduced, from baseline of 2.3 (1.0) to a post- therapy of 1.8 (1.1) without statistical significance (**Table 2**). Table 3 summarizes the values of the CPT baseline and post-therapy. Most changes involved the subpopulation of nociceptive C fibers with 24.4 % reduction in sensitivity. In the group of A β and A δ fibers, the reduction rate was respectively 15.5% and 20.4 %. There were no relevant side effects that prompted discontinuation of treatment, a post- treatment mild transient stinging was seen in about 7% of cases, and transient sedation in 10 % of patients. Discussion In VBD, a unanimous pathophysiological data is the proliferation of nerve endings in the vestibular mucosa, which is considered a non-specific reaction of previous mucosal triggers, such as infection, trauma, and hormonal factors. Another factor observed in women with this disease is the dysfunction of the pelvic floor muscles, contracted around the distal part of the vagina, probably as a reaction to persistent pain. Amitriptylina is the most widely used oral medication, although its real usefulness in the treatment of VBD is not clear. The doses commonly used vary (30-100 mg) as can vary the percentage of the response, ranging between 30-60 % .This mainly derives from

the difficulty in achieving an optimal therapeutic threshold resulting in high number of drop-outs due to the occurrence of side effects. The lidocaine, a local anesthetic, has been used topically as well as in local infiltration of the pudendal nerve with the aim of reducing the ectopic neuronal activity, responsible for allodynia and hyperalgesia, peculiar elements of neuropathic pain syndromes as well as that of the VBD. A multimodal approach towards the VBD is considered to be optimal, and from this point of view association of TENS with the use of drugs may prove to be a winning strategy. The EP allows to combine the electrical stimulation to the transmucosal transport of macromolecules even in high concentrations, which are then focused at the site of pain elicitation, vaginal vestibule, thus reducing the incidence of side effects. Our results suggest the effectiveness of the technique. The doses of amitriptyline and lidocaine that we used were high and no patient had to discontinue the treatment for the occurrence of side effects. The synergistic effect of TENS further contributed to the “reset” of the previously altered nociceptive system. The demonstration of the absorption and action of drugs as a result of channeling through vaginal EP, is confirmed by CPT values. A 20 % average reduction of the sensitivity of vestibular nerve fibres proves the effect of the combination of TENS with that of drugs in the management of the dysfunction in the pain perception system, proper to the VBD. A mild improvement of the symptoms may be due to the reduced frequency (1 appl./Week) and a relatively low number of EP vaginal sessions. In fact, previous studies on TENS led to brilliant results with an average of approximately 20 sessions. Moreover, the patients recruited had already been treated with limited or transient efficacy, leading to define them as “difficult”. Based on what aforementioned vaginal EP can be defined as an effective and promising technique in the management of VBD. Although further studies are needed to define the number and frequency of sessions required, as well as the mix of drugs to be used. It may further lead the foundation for the use of the technique in other vulvovaginal problems that require the use of drugs locally.

References

1. Polpeta NC, Giraldo PC, Teatin Juliato CR, Gomes Do Amaral RL, Moreno Linhares I, et al. (2012) Clinical and therapeutic aspects of vulvodynia: the importance of physicaltherapy. *Minerva Ginecol* 64: 437-445.
2. Ventolini G (2013) Vulvar pain: Anatomic and recent pathophysiologic considerations. *Clin Anat* 26: 130-133.
3. Tympanidis P, Terenghi G, Dowd P (2003) Increased innervation of the vulval vestibule in patients with vulvodynia. *Br J Dermatol* 148: 1021-1027.
4. Haefner HK, Collins ME, Davis GD, Edwards L, Foster DC, et al. (2005) The vulvodynia guideline. *J Low Genit Tract Dis* 9: 40-51.
5. Groysman V (2010) Vulvodynia: new concepts and review of the literature. *Dermatol Clin* 28: 681-696.
6. Reed BD, Caron AM, Gorenflo DW, Haefner HK (2006) Treatment of vulvodynia with tricyclic antidepressants: efficacy and associated factors. *J Low Genit Tract Dis* 10: 245-251.
7. Dede M, Yenen MC, Yilmaz A, Baser I (2006) Successful treatment of persistent vulvodynia with submucous infiltration of betamethasone and lidocaine. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 124: 258-259.

Compendium Ev Plus 2026

8. Zolnoun DA, Hartmann KE, Steege JF (2003) Overnight 5% lidocaine ointment for treatment of vulvar vestibulitis. *Obstet Gynecol* 02: 84-87.
9. Murina F, Bianco V, Radici G, Felice R, Di Martino, et al. (2008) Transcutaneous electrical nerve stimulation to treat vestibulodynia: a randomized controlled trail. *BJOG* 115: 1165-1170.
10. Denet AR, Vanbever R, Pr  at V (2004) Skin electroporation for transdermal and topical delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 56: 659-674.
11. Lombry C, Dujardin N, Pr  at V (2000) Transdermal Drug Delivery of Macromolecules Using Skin Electroporation. *Pharm Res* 17: 32-37.

Transmucosal delivery of cannabidiol using vestibular electroporation in patients with vestibulodynia: a randomized, blinded prospective trial

Clinical trial

Protocol n.: SDSM-2021-01.1

Version: ITA 1.0-December 20, 2021

Study Typology : randomized, blinded prospective trial

Principal Investigator: Filippo Murina

Research Center: Servizio di Patologia del Tratto Genitale Inferiore Clinica Ostetrica e Ginecologica Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi Milano, Italy

Protocol SDSM-2021-01.1
Version: ITA 1.0 dated December 20, 2021

Regione Lombardia
ASST Fatebenefratelli Sacco

Ospedale dei Bambini V. Buzzi
Ospedale di alta specializzazione materno-infantile convenzionato con l'Università degli Studi di Milano
Clinica Ostetrica e Ginecologica
SERVIZIO DI PATOLOGIA DEL TRATTO GENITALE INFERIORE

Research Center:
Servizio di Patologia del Tratto Genitale Inferiore
Clinica Ostetrica e Ginecologica
Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi
Milano, Italy

Principal Investigator:
Filippo Murina

Transmucosal delivery of cannabidiol using vestibular electroporation in patients with vestibulodynia: a randomized, blinded prospective trial

Protocol n.: SDSM-2021-01.1
Version: ITA 1.0-December 20, 2021
Study Typology: randomized, blinded prospective trial

1. Introduction

Vulvodynia is a highly prevalent form of chronic genital pain in women, to such an extent that prevalence studies estimate ranges from 10% to 28% in reproductive-aged women. Localized provoked vulvodynia at the vestibule, known as vestibulodynia (VBD), is the most common manifestation of the disease (about 80%). Women with VBD often describe vulvar pain as a burning, stinging, irritation, rawness, and dyspareunia (difficult or painful intercourse). Most patients with VBD described their pain as “hot,” “burning,” or “pricking” and that the vestibular area is sensitive to the touch (e.g. during sexual intercourse or tampon use) and that the pain would be increased by rubbing. The pattern of VBD responses is suggestive of sensory abnormalities in the form of evoked pain (e.g. hyperalgesia or allodynia), suggesting sensitization, an underlying manifestation of neuropathic pain. This is consistent with biopsy studies that have demonstrated increased innervation of the vulvar vestibule and an increase in subepithelial heparinase activity and cytokines that have been linked to neuroinflammatory processes; patients with VBD also experience body changes in sensitivity, suggesting that sensory dysregulation might be involved the expression of this pain condition. Furthermore, the discomfort inherent in VBD is always associated with pelvic floor muscle overactivity. This prolonged pattern can result in decreased tissue perfusion, muscle dysfunctional overactivity, and the development of myofascial trigger points, resulting in localized or radiating pain and/or intense tenderness. Neuropathic pain and hypertonicity can be considered a multifactorial and complex consequence of maladaptive neuronal plasticity. VBD is likely not one disease but rather several diseases, in which the common end point is vestibular hypersensitivity and pelvic floor hypertonic dysfunction. VBD represents a summation and overlapping of various trigger

factors (infections, hormonal disturbances, allergies, genetic aspects, psychological vulnerability, and others) with weight and predominance varying from patient to patient. There is no standard treatment of the disease, and few randomized controlled trials have been performed. The recommendations are in favor of a multi-dimensional approach, focusing on the management of pain and restoration of proper pelvic floor function.

References -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 1;13(3):291-304. -Wesselmann U, Bonham A, Foster D. Vulvodynia: Current state of the biological science. *Pain* 2014 Sep;155(9):1696.

2. Study Objective

The Research Hypothesis for the present study is to prospectively document the efficacy and safety of transmucosal delivery of cannabidiol using vestibular electroporation in patients with VBD. The abundant distribution of cannabinoid receptors on skin nerve fibers and mast cells provides implications for an anti-inflammatory, anti-nociceptive action of cannabinoid receptor agonists and suggests their putatively broad therapeutic potential. The non psychoactive analog of tetrahydrocannabinol (THC), cannabidiol (CBD) has demonstrated significant analgesic, anti-inflammatory, anti-neuropathic activities without the psychoactive effect of THC. It was demonstrated that topical application of CBD can achieve significant improvement in pain and other disturbing sensations in patients with peripheral neuropathy. Electroporation (EP) is the transitory structural perturbation of lipid bilayer membranes due to the application of high voltage pulses. Its topical application has been shown to increase the transdermal delivery of drugs with different order of magnitude. The presumption is to reach the area of clinical interest with a higher concentration of active ingredient achieving high efficacy and minimal side effects.

References

-Vucković S, Srebro D, Vujović KS, Vucetić C and Prostran M (2018) Cannabinoids and Pain: New Insights From
-Murina F - Transmucosal delivery of macromolecules using vaginal electroporation to treat vestibulodynia: A pilot study- *Clin Obstet Gynecol Reprod Med*, 2017 doi: 10.15761/COGRM.1000196

3. Outcomes

Primary efficacy outcome includes changes of symptoms evaluated through:

- 0-10 point visual scale (VAS) related to vulvar burning/pain and dyspareunia
- Vestibular cotton swab test (small cotton-tipped applicator lightly rolled over the surfaces of the vestibule (mean of values at the 1, 3, 5, 6, 7, 9, and 11 o'clock locations

by asking the subject to report pain intensity on a discrete visual analog scale of 1 (no pain) to 10 (worst possible pain).

- Changes on validated instruments: Female Sexual Function Index (FSFI), Vulvar Pain Functional Questionnaire (V-Q).

Secondary objectives include evaluation of current perception threshold (CPT) testing, a technique which quantifies the sensitivity of vestibular nerve fibers and vaginal EMG measurements, collected at states of rest and during several exercises of the pelvic floor through an EMG device with a vaginal sensor (Myotonus plus®-London-UK) The CPT values will be measured using the Neurometer CPT/C electrodiagnostic neurostimulator (Neurotron, Inc., Baltimore, MD), which emits constant alternating sinusoid waveform current stimuli at frequencies of 2000 Hz (specific for large, myelinated Ab fibers), 250 Hz (specific for Ad fibers), and 5Hz (specific for C fibers), at intensity levels from 0.001 to 9.99mA. Vulvar vestibule CPT values (1=0.01 mA) will be determined using a G-trode Vaginal/ Rectal Electrode (Neurotron, Inc., Baltimore, MD).

4. Description Of Research Design

4.1 Overall Study Plan

This is an interventional, randomized and blinded prospective trial on one cohort of patients to be conducted at Lower Genital Tract Unit-Obst. and Gyn, Dept. -V. Buzzi Hospital-University of Milan-Milan, Italy. Subject's meeting inclusion and exclusion criteria will receive one treatment cycle of transmucosal delivery of cannabidiol using vestibular electroporation consists of 6 treatments, once a week. This is followed by follow-up visits at 4 and 8 weeks.

4.2 Study Duration

Each eligible subject will participate in the study for approximately 3-6 months depending upon which arm is assigned at randomization. It is expected this investigator-initiated research study will be completed approximately 6 months following initial approval by the Institutional Ethical Board.

4.3 Institutional Ethical Board Approval (IEB)

Prior to conducting any study-related procedures, the Principal Investigators will each obtain written approval from their respective IEB for the informed consent form, protocol, recruitment materials, and any written information provided to Subjects pertaining to the procedure.

5. Selection And Withdrawal of Subjects

The study population will include women with VBD.

5.1 Subject Inclusion Criteria

All criteria below must be met for a Subject to be eligible for study participation.

- Women at least 18 years of age and before the menopause (absence of menstruation for 12 months)
- Experience moderate to severe pain (minimum of 5/10 on a numerical rating scale in at least 90 % of attempted sexual intercourse)
- Pain limited to the vestibule during vaginal intercourse and during activities exerting pressure on the vestibule (tampon insertion, tight jeans or pants, cycling, horseback riding)
- Presence of VBD for at least 6 months and diagnosed according to the standardized gynecological examination protocol by one of our staff gynecologists
- Have a stable sexual partner (sexual activity should include some attempted vaginal penetrations to evaluate pain intensity)
- Subject is willing to attempt sexual activity between visits
- Read and signed informed consent.

5.2 Subject Exclusion Criteria

Subjects who meet any of the following criteria shall be excluded:

- Active vulvo-vaginal infections at the time of their gynecological examination.
- Genital bleeding of unknown origin
- Patients concomitantly included in different interventional clinical trials.
- Unwillingness to provide the informed consent to the trial.

5.3 Subject Withdrawal Criteria

The Principal Investigator may discontinue a subject's participation in the study at any time if it is considered in the subject's best interest to do so. Such a decision may be precipitated by adverse events, new onset illness, clinically important changes in vital signs, physical examinations, or laboratory tests. Subjects who are noncompliant with study procedures and visits may also be withdrawn by the Principal Investigator. Subjects may withdraw from participation in the study at any time for any reason. A subject's decision to withdraw will not cause the subject to lose any benefits to which she is entitled. A subject who withdraws prematurely from the study will return to the clinic as soon as possible to undergo the final visit evaluations. If a subject prematurely withdraws or is withdrawn from study participation, the reason for the withdrawal must be recorded on the case report form (CRF). Record the primary reason for premature withdrawal according to the following categories:

- Adverse Event: Subject experiences an intolerable event, which may or may not be related to the study medication.
- Withdrawn Consent: Subject withdraws from study participation for personal reasons (exclude adverse experience before indicating this category).
- Concomitant Medication Violation: Subject initiates, discontinues, or changes dosing regimen of concomitant medication in violation of the protocol, which, in the judgment of the Principal Investigator, may adversely affect evaluation of safety.

- Lost-to-Follow-up: Subject does not return for evaluation and no further contact is made by the Subject after three documented phone or email attempts and a final attempt by certified mail.
- Other: Any reason that does not fit in the above 4 categories: the reason will also be recorded on the CRF.

6. Clinical Procedures

Clinical procedures throughout the study are described in the sections below.

6.1. Informed Consent

Each potential study Subject must provide written informed consent and authorize release of her protected health information before any study procedure is conducted.

6.2 Study Day up to -30 days. Subject Screening and Visit 1

Candidates for enrollment will be screened within 15 days prior to enrollment. Before initiation of any test procedures, Subjects will be fully informed of the study plan, procedures, and risks involved in participating in the study. Each potential Subject will be required to read and to indicate her understanding by signing and dating the ICF prior to initiation of any screening procedures. Screening procedures will consist of the following:

- Physical examination and medical history will be collected - Evaluation of symptoms: 0-10 point visual scale (VAS) related to dyspareunia and vulvo-vaginal pain/burning
- Completion of validated questionnaires FSFI and V-Q
- Vulvoscopy with evaluation of vestibular cotton swab test -Assessment of vestibular CPT evaluation using the Neurometer CPT/C, electrodiagnostic neurostimulator (Neurotron, Inc., Baltimore, MD)
- Assessment of vaginal EMG measurements, collected at states of rest and during several exercises of the pelvic floor through an EMG device with a vaginal sensor (Myotonus plus©-London-UK)

6.3. Study Day 0 days:

Treatment 1 Subject meeting inclusion and exclusion criteria will be enrolled and first transmucosal delivery of 3ml CBD 8% gel (active group) or 3ml gel (placebo group) using vestibular electroporation (Vagy Combi- Top Quality Health) treatment will be performed. Vagy Combi is a device that combines radiofrequency with electroporation to enhance the active substance penetration. One or more members of the staff who do not work directly with the subject will be responsible for assignment to active or placebo treatment based on random assignment. The gel for electroporation containing equal parts of CBD and placebo (gel without CBD) were placed in plastic bags and randomly distributed to operator who will perform the treatment.

6.4 Study Day 7 ± 1 days Treatment 2:

- Assess adverse events
- Treat vulvar vestibule region with CBD or gel through electroporation

6.4 Study Day 14 ± 1 days: Treatment 3

- Assess adverse events
 - Treat vulvar vestibule region with CBD or gel through electroporation
- 6.5 Study Day 21 ± 1 days: Treatment 4*
- Assess adverse events
 - Treat vulvar vestibule region with CBD or gel through electroporation

6.6 Study Day 28 ± 1 days: Treatment 5

- Assess adverse events
- Treat vulvar vestibule region with CBD or gel through electroporation

6.7 Study Day 35 ± 1 days: Treatment 6

- Assess adverse events
- Treat vulvar vestibule region with CBD or gel through electroporation
- Evaluation of symptoms: 0-10 point visual scale (VAS) related to dyspareunia and vulvo-vaginal pain/burning and vestibular cotton swab test

6.8 Study Day 65 ± 4 days: Follow-Up 1 (Visit 2) or Crossover Visit Subjects assigned to active group:

- Evaluation of symptoms: 0-10 point visual scale (VAS) related to dyspareunia and vulvo-vaginal pain/burning
- Completion of validated questionnaires FSFI and V-Q
- Vulvoscopy with evaluation of vestibular cotton swab test
- Assessment of vestibular CPT evaluation using the Neurometer CPT/C, electrodiagnostic neurostimulator (Neurotron, Inc., Baltimore, MD)
- Assessment of vaginal EMG measurements, collected at states of rest and during several exercises of the pelvic floor through an EMG device with a vaginal sensor
- Assess adverse events Subjects assigned to placebo group crossover complete visit 2 procedures today and follow protocol through to Visit 2 with active treatment.

6.9 Study Day 95 ± 4 days: Follow-Up 2 (Visit 3)

- Evaluation of symptoms: 0-10 point visual scale (VAS) related to dyspareunia and vulvo-vaginal pain/burning
- Completion of validated questionnaires FSFI and V-Q
- Vulvoscopy with evaluation of vestibular cotton swab test
- Assessment of vestibular CPT evaluation using the Neurometer CPT/C, electrodiagnostic neurostimulator (Neurotron, Inc., Baltimore, MD)
- Assessment of vaginal EMG measurements, collected at states of rest and during several exercises of the pelvic floor through an EMG device with a vaginal sensor

- Assess adverse events

7. Statistical Methods

7.1 Determination of Sample Size

We used <http://statulator.com> program which calculated sample size for paired differences. With power of 80% and level of significant of 5%, for detecting a mean of the differences of VAS scale of 1.5 (20%) between pairs, assuming the standard deviation of the differences to be 2 we will need to recruit 60 participants, 30 for each group.

Elettroporazione nel trattamento della sindrome genitourinaria associata alla menopausa (GSM)

L' elettroporazione vaginale (EPV[®]) nel trattamento dei disturbi vaginali della menopausa: studio pilota

Sudio clinico- Responsabile dello studio : Dott. Filippo Murina Resp. Servizio di Patologia Vulvare-Osp.V. Buzzi-ICP-Università di Milano

Aprile 2015

Introduzione.

La sindrome genitourinaria della menopausa (genitourinary syndrome of menopause, GSM) è definita come un insieme di segni e sintomi associati con la riduzione degli estrogeni circolanti che determinano cambiamenti a livello vaginale, vulvare, dell'uretra e della vescica. La sindrome include sintomi genitali quali la secchezza vaginale, il bruciore e l'irritazione, sintomi della sfera sessuale come la mancanza di lubrificazione e la dispareunia e sintomi urinari di urgenza, disuria e infezioni ricorrenti delle vie urinarie. I livelli circolanti di estradiolo nella donna in premenopausa variano tra i 40 e i 400 pg/mL e si riducono a meno di 20 pg/mL dopo la menopausa. L'elevata concentrazione dei recettori per gli estrogeni a livello vaginale, del vestibolo e del trigono vescicale regolano la maturazione e la proliferazione cellulare. I cambiamenti anatomici in menopausa includono l'aumentato turnover del collagene, la riduzione dell'elastina, l'aumento del tessuto connettivo e la riduzione del flusso sanguigno a livello vaginale con conseguente assottigliamento dell'epitelio. Principale presidio per agire sul trofismo e sulla nocicezione vestibolare è il ricorso ad una sostituzione di tipo estrogenico (NAMS,2013). Interessanti evidenze hanno dimostrato come una corretta terapia ormonale sostitutiva sistemica può essere insufficiente nel ridurre la dispareunia fino al 25% dei casi. Obiettivo dello studio è stato quello di valutare l'efficacia dell'EPV nella veicolazione combinata di estriolo ed acido ialuronico in gel, al fine di consentire una più elevata penetrazione e persistenza dei principi attivi in sede vaginale.

Materiali e Metodi.

Sono state trattate 15 pazienti in menopausa da almeno 1 anno, lamentanti bruciore e secchezza vaginale. Il protocollo di cura è stato condotto sottoponendo le pazienti ad un trattamento settimanale con EPV per un ciclo di 8-10 sedute. Nel gel conduttore è stata disciolta una quantità di estriolo in gel pari a 50 microgr. (Gelistol) complessato ad ac.ialuronico 0.2% in gel pari a 3g (Hyalos). Outcome principale è stato la riduzione del bruciore e secchezza vaginale, valutati tramite score crescente : 0=assente; 1=lieve; 2=medio e 3=intenso.

Risultati.

Tutte le pazienti hanno terminato il ciclo di terapia, e si è registrato un lieve bruciore solo in 2 donne. Dopo 8-10 sedute lo score del bruciore si è ridotto da una media di 2.9 ad una di 1.7, mentre la secchezza ha avuto una variazione più rilevante, passando da una media di 2.7 ad una di 0.6.