



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

LUIZA BORGES AGUIAR

**EFEITOS DO LASER DE CO₂ FRACIONADO NOS SINTOMAS
URINÁRIOS DA SÍNDROME GENITURINÁRIA DA MENOPAUSA E
NO ECOSSITEMA VAGINAL: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO**

*EFFECTS OF FRACTIONAL CO₂ LASER IN URINARY SYMPTOMS OF
GENITURINARY SYNDROME OF MENOPAUSE AND VAGINAL ECOSYSTEM:
RANDOMIZED CLINICAL TRIAL*

CAMPINAS
2019

LUIZA BORGES AGUIAR

**EFEITOS DO LASER DE CO₂ FRACIONADO NOS SINTOMAS URINÁRIOS DA
SÍNDROME GENITURINÁRIA DA MENOPAUSA E NO ECOSSISTEMA VAGINAL:
ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO**

*EFFECTS OF FRACTIONAL CO₂ LASER IN URINARY SYMPTOMS OF
GENITURINARY SYNDROME OF MENOPAUSE AND VAGINAL ECOSYSTEM:
RANDOMIZED CLINICAL TRIAL*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Tocoginecologia da Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos
exigidos para a obtenção do título de doutora em Ciências da
Saúde. Área de Concentração – Fisiopatologia Ginecológica.

*Thesis presented to Post Graduate Program of Obstetrics and
Gynecology, School of Medical Sciences, State University of
Campinas - UNICAMP for obtaining the Ph.D grade.
Concentration Area - Gynecological Physiopathology.*

ORIENTADORA: LÚCIA HELENA SIMÕES DA COSTA PAIVA

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA
PELA ALUNA LUIZA BORGES AGUIAR, E ORIENTADA PELA PROF^a. DR^a. LÚCIA
HELENA SIMÕES DA COSTA PAIVA.

CAMPINAS
2019

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): Não se aplica.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8831-3930>

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

C63e Aguiar, Luiza Borges, 1987-
Efeitos do laser CO₂ fracionado nos sintomas urinários da síndrome geniturinária da menopausa e no ecossistema vaginal : ensaio clínico randomizado / Luiza Borges Aguiar. – Campinas, SP : [s.n.], 2019.

Orientador: Lúcia Helena Simões da Costa Paiva.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Laser fracionado de CO₂. 2. Síndrome geniturinária da menopausa. 3. Incontinência urinária. 4. Flora vaginal. 5. Vaginite atrófica. 6. Urgência. 7. Estrogênios. I. Costa-Paiva, Lucia, 1958-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Effects of fractional CO₂ laser in urinary symptoms of genitourinary syndrome of menopause and vaginal ecosystem : randomized clinical trial

Palavras-chave em inglês:

Fractional laser CO₂

Genitourinary syndrome of menopause

Urinary incontinence

Vaginal flora

Atrophic vaginitis

Urgency

Estrogens

Área de concentração: Fisiopatologia Ginecológica

Titulação: Doutora em Ciências da Saúde

Banca examinadora:

Lúcia Helena Simões da Costa Paiva [Orientador]

Eliana Aguiar Petri Nahas

José Mendes Aldrighi

Luiz Gustavo de Oliveira Brito

Paulo Cesar Giraldo

Data de defesa: 15-02-2019

Programa de Pós-Graduação: Tocoginecologia

BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DOUTORADO

LUIZA BORGES AGUIAR

ORIENTADORA: Lúcia Helena Simões da Costa Paiva

MEMBROS:

1. PROF^a. DR^a. LÚCIA HELENA SIMÕES DA COSTA PAIVA

2. PROF^a. DR^a. ELIANA AGUIAR PETRI NAHAS

3. PROF. DR. JOSÉ MENDES ALDRIGHI

4. PROF. DR. LUIZ GUSTAVO OLIVEIRA BRITO

5. PROF. DR. PAULO CESAR GIRALDO

Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros da banca examinadora consta no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

Data: 15/02/2019.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Rosângela e Pedro, pelo apoio incansável, respeito infinito e amor incondicional! Sem vocês nada seria possível! Sem vocês nada faria sentido!

“Outro dia observei a construção de um ninho. Vi graveto por graveto, no bico de um passarinho. Parecia um engenheiro, tão forte, tão ligeiro, mesmo tão pequenininho. É ali que cada filho vai aprender a cantar, vai ver os raios do sol a chuva pingar, até que um belo dia vai provar a alegria de aprender a voar! E eu fiquei ali pensando do que é feito o nosso ninho, porque nós também nascemos frágeis, feito um passarinho. E a mãe, do mesmo, jeito trabalha e constrói o nosso ninho. Enfrenta tudo no mundo pra poder nos proteger, dá pra gente o de calçar o de vestir o de comer. E quando o dia chegar, a gente não vai voar, mas já vai saber correr! Vai correr no meio do mundo, na correria da vida, vai sofrer vai sentir medo, vai ter a alma ferida, mas também vai entender que a estrada a percorrer não é apenas de ida!

O ninho, meu povo, o ninho está sempre ali. Basta o cabra reparar que é, talvez, pelo retorno que a gente aprende a andar, que as coisas são diferentes, que às vezes andar pra frente também pode ser voltar! Voltar pra não esquecer quem nunca esquece a gente. Pra se lembrar do abraço mais apertado, mais quente, lembrar da ave mais bela, mais bonita, mais singela, mas também a mais valente! Lembrar que cada graveto de amor e de carinho, cada folha, cada galho, preparam seu caminho, lhe deram sabedoria, pois já já será o dia de fazer seu próprio ninho!”

Bráulio Bessa

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, à Deus pela benção da vida, proteção e auxílio constante e pela oportunidade de cuidar de pessoas todos os dias.

Aos meus pais, Rosângela e Pedro, por toda dedicação, apoio, respeito, proteção, encorajamento e suporte em todos os momentos. Nada do que construí teria sido possível sem o apoio de vocês. Obrigada por acreditarem em mim sempre. Vocês são meu imenso amor!

À professora Dr^a Lúcia Helena Simões da Costa Paiva por acreditar e confiar em mim e no meu trabalho durante todos esses anos. Agradeço imensamente por todo aprendizado e conhecimento compartilhado, por todo auxílio na minha formação como pesquisadora, no meu crescimento profissional e pessoal. Muito obrigada por tudo, para sempre!

Ao querido amigo Polítano e a toda sua família por me acolherem de forma tão amável e sincera. Agradeço por todo suporte, amizade, confiança e parceria dentro e fora da pós-graduação.

À querida Talita por toda ajuda, sempre de boa vontade, em todos os momentos que precisei durante o processo de construção do estudo.

À grande amiga Márcia por todo auxílio e atenção, sempre solícita, dedicada e prestativa. Obrigada pela bela amizade que construímos ao longo desses anos.

À Jussara por ser um porto seguro e, de uma forma ou de outra, ter estado ao meu lado em todos os momentos dessa (e de outras) jornadas. Obrigada por tanto!

Aos amigos queridos que de alguma maneira contribuíram para esta realização.

Agradeço imensamente a todas as mulheres que gentilmente cederam seu tempo e se prontificaram a participar deste estudo.

RESUMO

A Síndrome Geniturinária da Menopausa é um conjunto de sinais e sintomas, como ressecamento vaginal, prurido, dispareunia e sintomas urinários, decorrentes de alterações relacionadas ao hipoestrogenismo na pós-menopausa. Acomete aproximadamente 70% das mulheres nesta fase da vida e, se não tratadas, tendem a se agravar progressivamente. O tratamento é baseado no uso de lubrificantes, hidratantes vaginais, estrogênios tópicos e técnicas de tratamento fisioterapêutico. Entretanto, alguns desses tratamentos podem apresentar resultados insatisfatórios ou pouca aderência das mulheres. Avaliar novas opções de tratamentos não-hormonais permitirá o tratamento de mulheres com contraindicação à terapia hormonal ou que não apresentaram melhora significativa. **Objetivos:** Avaliar e comparar os efeitos do uso de laser de CO₂ fracionado, promestrieno tópico e lubrificante vaginal no tratamento dos sintomas urinários e no ecossistema vaginal de mulheres com Síndrome Geniturinária da Menopausa. **Sujeitos e métodos:** Este estudo é um ensaio clínico randomizado que incluiu 72 mulheres na pós-menopausa. Foram selecionadas mulheres com idade igual ou superior a 50 anos, acompanhadas no Ambulatório de Menopausa do CAISM-Unicamp e voluntárias que se interessaram em participar através dos processos de divulgação. As participantes foram randomizadas em três grupos de tratamento, com 24 mulheres cada: Grupo 1 – LaserCO₂, Grupo 2 – Promestrieno e Grupo 3 – Lubrificante vaginal. Foram avaliados como sintomas urinários a perda urinária aos esforços, noctúria, urgência e urge-incontinência, através dos questionários validados ICIQ-UI SF e ICIQ-OAB. A flora vaginal foi avaliada através da secreção vaginal colhida para exame bacterioscópico. A análise estatística foi realizada através dos testes de Qui-Quadrado ou exato de Fisher (para valores esperados menores que 5). Para comparação das variáveis numéricas foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis e para comparar as variáveis categóricas foram usados o teste de McNemar e o teste de simetria de Bowker. O nível de significância adotado foi de 5% e para análises foi utilizado o software The SAS System for Windows, versão 9.2. **Resultados:** A média de idade da população estudada foi de 57,28(±5,15), o tempo médio de menopausa de 9,30(±6,35) e idade da menopausa de 48,14(±5,53) anos. Após o tratamento, houve melhora significativa do Grupo 1 no escore total ICIQ-UI SF (p=0,004) e noctúria (p=0,031). Além disso, o Grupo 1 se mostrou superior ao Grupo 3 quanto à melhora dos sintomas de bexiga hiperativa

($p=0,020$). Quanto à flora vaginal, houve aumento significativo de *Lactobacillus* no Grupo 1, isoladamente ($p=0,001$) e em relação aos outros grupos ($p<0,001$). Houve melhora significativa do pH nos Grupos 1 ($p=0,001$) e 2 ($p=0,043$), e também quando comparados ao Grupo 3 ($p<0,001$). O escore *Nugent* melhorou tanto no Grupo 1 ($p<0,001$) como também na comparação aos demais grupos ($p<0,001$). **Conclusão:** O tratamento com LaserCO₂ é uma alternativa eficaz e minimamente invasiva para tratar sintomas urinários, reestabelecer a população de *Lactobacillus* e o ecossistema vaginal das mulheres com Síndrome Geniturinária da Menopausa.

Palavras-chave: laser CO₂ ; síndrome geniturinária da menopausa; atrofia vulvovaginal; urgência, bexiga hiperativa, incontinência urinária; flora vaginal; lactobacilos; estrogênio

ABSTRACT

The Genitourinary Syndrome of Menopause is a set of signs and symptoms such as vaginal dryness, pruritus, dyspareunia and urinary symptoms resulting from changes related to postmenopausal hypoestrogenism. It affects approximately 70% of women at this stage of life and, if untreated, tends to progressively worsen. The treatment is based on the use of lubricants, vaginal moisturizers, topical estrogens and physiotherapeutic treatment techniques. However, some of these treatments may have unsatisfactory results or poor adherence. Evaluating new options for non-hormonal treatments will allow the treatment of women with contraindication to hormone therapy or who did not show significant improvement. **Objectives:** To evaluate and compare the effects of fractional CO₂ laser, topical prometriede and vaginal lubricant in the treatment of urinary symptoms and in the vaginal ecosystem of women with Genitourinary Syndrome of Menopause. **Subjects and Methods:** This study is a randomized clinical trial that included 72 postmenopausal women. Women aged 50 years and over, accompanied at the Menopause Outpatient Clinic of CAISM-Unicamp and volunteers who were interested in participating through the dissemination processes, were selected. Participants were randomized into three treatment groups, with 24 women each: Group 1 - LaserCO₂, Group 2 - Promestriede and Group 3 - Vaginal lubricant. Effort loss of urine, nocturia, urgency, and urge-incontinence were evaluated as urinary symptoms using validated ICIQ-UI SF and ICIQ-OAB questionnaires. The vaginal flora was evaluated through vaginal secretion collected for bacterioscopic examination. Statistical analysis was performed using Chi-square or Fisher's exact tests (for expected values less than 5). To compare the numerical variables, the Kruskal-Wallis test was used and the McNemar test and the Bowker symmetry test were used to compare the categorical variables. The significance level adopted was 5% and for analysis the software The SAS System for Windows, version 9.2 was used. **Results:** The mean age of the studied population was 57.28 (± 5.15), the mean time of menopause was 9.30 (± 6.35) and the age of menopause was 48.14 (± 5.53) years. After treatment, there was a significant improvement of Group 1 in the total ICIQ-UI SF score ($p=0.004$) and nocturia ($p=0.031$). In addition, Group 1 was superior to Group 3 for improvement of overactive bladder symptoms ($p=0.020$). Regarding the vaginal flora, there was a significant increase of *Lactobacillus* in Group 1, alone ($p=0.001$) and in relation to the other groups ($p<0.001$). There was a significant

improvement in pH in Groups 1 ($p=0.001$) and 2 ($p=0.043$), and also when compared to Group 3 ($p<0.001$). The Nugent score improved both in Group 1 ($p<0.001$) and also in the comparison to the other groups ($p<0.001$). **Conclusion:** Treatment with LaserCO₂ is an effective and minimally invasive alternative to treat urinary symptoms, reestablish the *Lactobacillus* population and the vaginal ecosystem of women with Genitourinary Syndrome of Menopause.

Keywords: fractional CO₂ laser; genitourinary syndrome of menopause; vulvovaginal atrophy; urgency; overactive bladder; urinary incontinence; vaginal flora; *Lactobacillus*; estrogen

SUMÁRIO

Introdução	12
Objetivos	18
Materiais e Métodos	19
Resultados	29
Artigo 1	30
Artigo 2	50
Discussão Geral	72
Conclusão	76
Referências	77
Anexos	80

1. INTRODUÇÃO

O fenômeno de envelhecimento populacional é realidade em todo o mundo. Dados divulgados em 2017 pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), apontam uma expectativa de vida de 75,8 anos para a população geral no ano de 2016. Para as mulheres brasileiras essa expectativa de vida é de 79,4 anos e está projetada para 84,23 em 2060. Logo, aproximadamente um terço da vida dessas mulheres será vivenciado na pós-menopausa¹⁻³.

O climatério é um processo fisiológico que envolve muitas transformações. Com a ocorrência da menopausa, a produção de estrógenos pelos ovários é reduzida progressivamente. Como consequência direta à essa redução, diversas alterações histológicas, fisiológicas, anatômicas, clínicas e emocionais, como labilidade emocional, prejuízos na autoestima e na vida sexual, afetam as mulheres. Essas alterações resultam em vários sintomas, de intensidade leves à severa, que afetam aproximadamente 80% das mulheres nessa fase da vida^{3,4}.

O trato genital possui um epitélio escamoso sensível à atividade hormonal devido à grande quantidade de receptores de estrogênio. Com a ausência desse hormônio, gradativamente a quantidade e organização das fibras de colágeno se alteram, a elastina é reduzida, o tecido conjuntivo fica mais denso e a lubrificação e o fluxo sanguíneo diminuem. O epitélio se torna, então, mais fino, frágil, pálido e sem rugosidade. O canal vaginal torna-se encurtado, estreito, menos elástico, com paredes lisas e finas e coloração pálida, que resulta em secura vaginal, prurido e ardor, sintomas característicos da atrofia vulvovaginal^{3,5-8}.

Com o tecido vaginal atrofiado e friável pode, facilmente, acontecer lesões durante a penetração e causar a dor, irritação, queimação, fissura e sangramento pós coito^{3,5,6}. Essas alterações histológicas e anatômicas afetam também o trato urinário inferior. De acordo com a Teoria Integral, alterações e redução das fibras de colágeno e elastina no tecido conjuntivo vaginal, fáscia e nos ligamentos, responsáveis pela harmonia e sustentação pélvica, compromete esse sistema de suporte e favorece o surgimento de disfunções. Dessa forma, com o avançar da idade, essas mulheres se tornam cada vez mais suscetíveis à sofrer com sintomas urinários⁹⁻¹¹.

Em 2014, uma nova terminologia foi proposta pela *North American Menopause Society* (NAMS) e a *International Society for Study of Women's Sexual Health* (ISSWSH) para os sintomas até então descritos por atrofia vulvovaginal. O objetivo

dessa iniciativa foi propor um termo que abrangesse tanto os sintomas vaginais quanto os urológicos consequentes às alterações decorrentes do hipoestrogenismo. Determinou-se a terminologia “Síndrome Geniturinária da Menopausa” (SGU), um conjunto de sinais e sintomas resultantes das mudanças histológicas, anatômicas, clínicas do trato genital e urinário inferior, induzidas pela redução progressiva dos hormônios ovarianos^{5,12,13}. Os sintomas mais comuns são secura vaginal, prurido, queimação, petéquias, dispareunia, infecções do trato urinário de repetição, urgência e incontinência urinária, disúria e irritação^{3,13,14}. De 20% a 50% das mulheres na pós-menopausa sofrerão com pelo menos um sintoma associados à Síndrome Geniturinária da Menopausa¹⁵.

A microbiota vaginal também sofre alterações com a redução hormonal. O epitélio vaginal é escamoso estratificado, úmido, espesso, rugoso, elástico, flexível e lubrificado. É formado por três camadas funcionais (superficial, intermediária e profunda) e lâmina própria de tecido conjuntivo altamente vascularizado. Esse epitélio, assim como o trato urinário inferior, possui alta concentração de receptores de estrogênio, que tem papel fundamental na resposta celular e liberação de glicogênio^{5,7,16}. Os *Lactobacillus* e demais bactérias da microbiota vaginal metabolizam esse glicogênio em glicose e ácido lático, que mantêm o meio vaginal ácido com pH entre 3,8 a 4,5, considerado normal¹⁷⁻¹⁹. Após a menopausa, a população de *Lactobacillus* e bactérias comensais se reduzem e, consequentemente, o ácido lático também. Com isso, o pH vaginal aumenta, a flora vaginal é alterada e se torna mais suscetível a patógenos^{3,6}.

Diferentemente dos sintomas vasomotores, a Síndrome Geniturinária da Menopausa é crônica e pode se agravar com o passar do tempo^{3,7,20}. Nappi *et al.* (2018)²¹ avaliou o conhecimento e atitudes de 2509 mulheres latino-americanas, das quais 504 eram brasileiras, frente à Síndrome Geniturinária. Para 98% das brasileiras a saúde é parte fundamental para uma vida mais feliz. No entanto, ao contrário dos demais países investigados, apenas 31% das brasileiras se preocupam com sua saúde vaginal.

O estudo concluiu que as mulheres latino-americanas não possuem conhecimento sobre a Síndrome Geniturinária, apenas 6% do total da amostra identificou os sintomas relacionados à síndrome. E, além disso, as participantes não

reconhecem a síndrome como uma condição crônica e muitas, inclusive, a consideram como parte do processo normal de envelhecimento²¹.

Conversar sobre os sintomas da Síndrome Geniturinária com os ginecologistas e os demais profissionais de saúde permanece um tabu. Muitas pacientes sentem-se constrangidas e não revelam suas queixas na busca de algum tratamento^{3,14,20}. Diante deste entrave, a Síndrome Geniturinária continua sendo sub-diagnosticada e sub-tratada^{7,22}. Estudos sugerem que médicos e profissionais de saúde sejam proativos para que os sintomas da Síndrome Geniturinária sejam diagnosticados e, dessa forma, serem adequadamente tratados^{3,7,14,22}.

A associação de todas essas alterações e sintomas prejudicam diretamente a qualidade de vida, autoestima e autoimagem. No Brasil, 44% das mulheres consideram que os sintomas vaginais comprometem sua autoestima^{4,21}.

Embora grande parte das mulheres permaneçam sexualmente ativas após a menopausa e a atividade sexual regular é apontada como um fator protetor para a atrofia vaginal, estudos mostram que a os sintomas da Síndrome Geniturinária possuem grande impacto negativo na vida sexual e dessas mulheres^{3,5,21,23,24}.

Um estudo realizado por Parish *et. al* mostrou que grande parte das mulheres relataram que, com o passar do tempo, aprenderam a conviver com a síndrome e vivem uma vida sexual menos ativa em razão da dispareunia²⁵.

Existem várias opções terapêuticas para a Síndrome Geniturinária. A escolha da terapia deve ser pautada na gravidade dos sintomas, preferência da paciente e na avaliação individual de possíveis contraindicações, com foco no alívio dos sintomas. A *North American Menopause Society* (NAMS) recomenda hidratantes vaginais como primeira linha de tratamento para mulheres sem queixas de dispareunia. O uso de lubrificantes vaginais associados à regularidade de atividade sexual são indicados principalmente para aquelas pacientes com queixas de dispareunia³.

Lubrificantes e hidratantes vaginais também são uma alternativa para pacientes que não desejam fazer uso de terapias hormonais. No entanto, esse tratamento oferece apenas um alívio temporário e de curto prazo, uma vez que os sintomas também retornam com a interrupção do uso^{3,23}.

A terapia com estrógeno vaginal também é um tratamento de escolha, sendo considerado *gold standard* para mulheres com sintomas moderados ou severos²⁶. Apesar de se tratar de um uso hormonal tópico e de baixa dose, deve-se considerar

o potencial risco de pequenos aumentos de estrógenos circulantes. Portanto, a utilização dessa terapia em mulheres com possíveis risco e/ou acometidas por câncer de mama e de endométrio deve ser tomada em conjunto com o oncologista^{3,26}.

Embora as terapias com estrogênio tópico sejam eficazes e geralmente seguras, muitas mulheres rejeitam o tratamento por preocuparem-se com a segurança a longo prazo, com a exposição hormonal e possíveis efeitos colaterais ou relatam melhora insatisfatória^{7,15,23,26}. Além disso, o uso dessa terapia é considerada inconveniente devido à necessidade do uso contínuo do creme hormonal, que deve ser aplicado na vagina três vezes por semana, para manutenção dos resultados.

Consequentemente, a adesão ao tratamento pode ser limitada⁴ e comprometer o sucesso terapêutico, pois os sintomas geralmente voltam após a suspensão do uso medicação¹⁵.

A NAMS destaca ainda a importância do tratamento fisioterapêutico, inclusive associado à terapia hormonal tópica. A fisioterapia tem diversos recursos úteis para atender a essas mulheres. Técnicas como a massagem perineal e dilatadores graduados favorecem na recuperação da função vaginal. Além disso, o treinamento da musculatura do assoalho pélvico proporciona consciência corporal, fortalecimento muscular e incrementa a circulação sanguínea^{3,27}.

Para aquelas mulheres com perda involuntária de urina, o tratamento conservador não farmacológico é priorizado, principalmente em mulheres idosas. A fisioterapia tem recursos valiosos para benefício dessas mulheres e é terapia de primeira linha (grau de recomendação A)^{28,29}. O treinamento da musculatura do assoalho pélvico, especialmente realizados sob supervisão fisioterapêutica, proporciona fortalecimento das estruturas de sustentação do trato urinário inferior e órgãos pélvicos, favorece o suporte uretral e aumenta a circulação sanguínea^{28,29}. O treinamento da musculatura do assoalho pélvico também apresenta benefícios para a bexiga hiperativa²⁷. Além disso, a fisioterapia pode ser associada à outras opções terapêuticas conservadoras, como a terapia comportamental e/ou medicação, para obter melhores resultados³⁰. As drogas antimuscarínicas são geralmente prescritas para esses casos³¹, entretanto a adesão ao tratamento é potencialmente baixa em razão de efeitos adversos ou falta de resultados satisfatórios²⁹.

Atualmente, tem-se procurado alternativas de tratamento tanto para atrofia vaginal quanto para os sintomas urinários, relacionados ou não à Síndrome

Geniturinária da Menopausa. A terapia com laser tem citada como uma opção minimamente invasiva para o tratamento específico da Síndrome Genitourinária⁴.

O laser (*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*) já é bastante utilizado em várias vertentes da medicina e da odontologia. Dentre os vários tipos de laser disponíveis, o laser de CO₂ é um dos mais potentes e eficientes. É um laser gasoso, que mistura dióxido de carbono, hélio e nitrogênio em proporções adequadas, emite comprimento de onda de 10.600nm e possui alta afinidade pela água³².

Baseada na medicina regenerativa e nos promissores resultados dermatológicos, foi criado um dispositivo específico para aplicação de Laser de CO₂ fracionado na região genital. Sua forma pulsada evita lesões decorrentes de superaquecimento^{4,33}.

Estudos demonstram que, assim como na pele, a aplicação vaginal do laser estimula, através de sua ação térmica e microablativa, a reparação funcional e tecidual da vagina^{8,32,34}. Ao entrar em contato com o tecido, a luz penetra, é absorvida, transformada em calor e conduzido ao tecido adjacente. O calor se dissipa à medida que se distancia da zona de penetração³⁵. O choque térmico provocado pelo laser, estimula a produção das proteínas *heat shock*. Essas proteínas tem ação direta em vários fatores de crescimento envolvidos na formação de colágeno de disposição trabecular, matriz celular, novas células epiteliais e revascularização^{4,8,16}.

Salvatore *et al.* realizou um estudo piloto (2014) com objetivo de avaliar a eficácia e viabilidade do uso do laser de CO₂ fracionado para tratamento da atrofia vaginal. Os resultados mostraram alívio dos sintomas e melhora significativa do Índice de Saúde Vaginal, além de um alto índice de satisfação com o tratamento³⁶. No ano seguinte, os autores realizaram um novo estudo, com o mesmo esquema de tratamento, mas com objetivo de avaliar a remodelação tecidual induzida pelo laser. Os resultados revelaram mudanças morfológicas significativas na parede vaginal, com remodelação de tecido conectivo vaginal, confirmando a eficácia da técnica⁸.

Um recente estudo brasileiro, o primeiro ensaio clínico randomizado, duplo-cego e placebo controlado, avaliou a eficácia do tratamento com laser de CO₂ fracionado intravaginal isolado comparado ao uso tópico de estriol e à associação das duas técnicas. Os resultados encontrados evidenciam que o laser de CO₂ fracionado são semelhantes ao estriol tópico e à terapia combinada. Os autores concluíram que o laser de CO₂ fracionado intravaginal é uma alternativa ao tratamento

com estrógeno tópico, principalmente naquelas mulheres com contraindicação para terapia hormonal²⁴.

Bem como para os sintomas vaginais, também existem na literatura muitos estudos que apontam os benefícios das terapias a laser nos sintomas urinários³². Três recentes revisões sistemáticas³⁷⁻³⁹ confirmam os benefícios obtidos nos tratamentos a laser, apontando uma taxa de melhora de até 78% naquelas mulheres tratadas com laser CO₂ fracionado intravaginal. No entanto, alertam que essas evidências encontradas na literatura são de baixa qualidade, baseadas em estudos com limitações casuísticas.

Embora muitas evidências sugere que CO₂ fracionado é uma alternativa eficaz, facilmente aplicável, promissora e minimamente invasiva para tratar os sintomas da Síndrome Geniturinária da Menopausa^{36,40} bem como melhorar da qualidade de vida e da função sexual^{4,34}, a qualidade desses indícios é baixa e limitada a estudos observacionais, sem grupos de comparação e curto seguimento, pouco consistentes e carentes de ensaios clínicos e multicêntricos randomizados controlados. Além disso, a segurança desses dispositivos não está estabelecida a longo prazo, bem como os possíveis efeitos adversos importantes, como queimaduras vaginais, dispareunia e dor^{34,37-39}.

Diante da escassez de ensaios clínicos randomizados e a necessidade de mais estudos conclusivos sobre o uso do laser em ginecologia, os resultados deste estudo poderão contribuir para a construção desse conhecimento e suas possíveis implicações.

2. OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar e comparar os efeitos do uso local de laser de CO₂ fracionado, promestrieno tópico e lubrificante vaginal no tratamento dos sintomas urinários e no ecossistema vaginal de mulheres com Síndrome Geniturinária da Menopausa.

Objetivos específicos

- Avaliar e comparar os efeitos do tratamento com uso de laser de CO₂ fracionado intravaginal, promestrieno tópico e lubrificante vaginal nos sintomas de perda urinária aos esforços, noctúria, urgência e urge-incontinência em mulheres com Síndrome Geniturinária da Menopausa.
- Avaliar e comparar os efeitos do tratamento com uso de laser de CO₂ fracionado intravaginal, promestrieno tópico e lubrificante vaginal no ecossistema vaginal de mulheres com Síndrome Geniturinária da Menopausa.
- Descrever a incidência e complicações observadas durante e após o tratamento com laser de CO₂ fracionado intravaginal, em mulheres com Síndrome Geniturinária da Menopausa.

3. MÉTODO

Este trabalho faz parte de um projeto maior que avaliou vários aspectos do tratamento com laser de CO₂ fracionado (atrofia vulvovaginal, função sexual, histologia e colágeno vaginal, sintomas urinários e ecossistema vaginal). Nesta tese são apresentados os resultados referentes aos sintomas urinários e ecossistema vaginal.

Desenho do estudo

Ensaio Clínico Randomizado Controlado

Tamanho Amostral

Durante a elaboração deste protocolo de pesquisa, não foram encontrados na literatura estudos que comparassem o uso do Laser de CO₂ fracionado intravaginal com terapia estrogênica tópica e placebo. Considerando as evidências disponíveis, utilizou-se como base os resultados encontrados em estudos de intervenção prospectivos, abertos, piloto, com uso do laser de CO₂ fracionado e sem grupos de comparação. Em razão das demais análises e comparações propostas nesse protocolo, estabeleceu-se uma amostra mínima de 20 casos completos alocados em cada grupo. Devido às possíveis perdas de seguimento ao longo do estudo, aumentou-se o tamanho amostral em 20%, ou seja, 24 casos por grupo. Foi definido, então, um total de 72 casos a serem aleatorizados nos grupos de intervenção.

Processo de Randomização

Setenta e duas mulheres foram randomizadas em três grupos de intervenção. A alocação das participantes foi realizada de acordo com uma lista de randomização, gerada eletronicamente, através do programa Microsoft Excel para o Windows 2007 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, EUA) (Anexo 1). Foram alocadas 24 mulheres em cada um dos grupos de tratamento.

A lista de randomização foi mantida com uma auxiliar de pesquisa, não envolvida no estudo, no recrutamento e avaliação, responsável por realizar a alocação das participantes nos grupos de intervenção seguindo a sequência da lista randômica.

Variáveis

Independentes:

Intervenção: foi dividido em três grupos para tratamento tópico, por 12 semanas:

- Grupo 1 – Aplicação do laser de CO₂ fracionado (SmartXide² V²LR, MonaLisa Touch™, DEKA, Florence, Italy) intravaginal, com aplicador cilíndrico de 360° e o aplicador 90° - 30°. Foram realizadas 3 sessões de laser, com intervalo mínimo de 30 dias e máximo de 45 dias entre as sessões³⁶.
- Grupo 2 – Uso de promestrieno vaginal, Antrofi®, produzido pela Eurofarma, na concentração de 10 mg/g, 3 vezes por semana, por 12 semanas consecutivas.
- Grupo 3 – Uso de gel lubrificante tópico a base de água, KY®, em todas as relações sexuais, por 12 semanas consecutivas.

Dependentes: Foram realizadas duas avaliações, uma pré-tratamento e outra após quinze dias após o final dos tratamentos propostos.

Sintomas urinários: sintomas de perda urinária aos esforços, noctúria, urgência e urge-incontinência. Avaliados através dos questionários validados (Anexo 2 e 3):

- *International Consultation on Incontinence Questionnaire - Short Form* (ICIQ-UI SF) é composto por quatro questões com objetivo de avaliar a incontinência urinária de esforço e seu impacto na qualidade de vida. Um escore total maior corresponde a um quadro clínico de maior gravidade, e seus valores variam de zero e 21⁴¹.
- *International Consultation on Incontinence Questionnaire Overactive Bladder* (ICIQ-OAB) é composto por oito itens com a finalidade de avaliar o quadro de bexiga hiperativa e o impacto desses sintomas na qualidade de vida. O escore total pode variar de zero a 16 e um escore maior corresponde, também, a um comprometimento maior⁴².

pH vaginal: grau de acidez ou alcalinidade do meio vaginal. A variação normal é entre 3.8 e 4.5¹⁹. O pH vaginal foi coletado da parede lateral da vagina através do 'Papel Indicador Especial pH 0 – 14', fabricado pela Merck, Alemanha.

Microbiota vaginal: presença de células e bactérias que compõe a flora vaginal e suas devidas proporções. Avaliado através da coloração de Gram e classificado em: Tipo 1 (predomínio de pelo menos 85% de *Lactobacillus*), Tipo 2 (equilíbrio entre *Lactobacillus* e flora cocóide) e Tipo 3 (ausência quase completa de *Lactobacillus* com presença de flora cocóide)¹⁸ (18). Foram avaliados ainda a presença de lise celular e inflamação e quantidade de *Lactobacillus*. A presença de processo inflamatório foi classificada em ausente (ausência de leucócitos), leve (1 a 4 leucócitos / campo) e acentuada (>4 leucócitos/campo). E a lise foi classificada em função dos núcleos soltos no esfregaço.

Nugent: O método de Nugent *et al.* (1991)⁴³ representa o método laboratorial de escolha para o diagnóstico de vaginose bacteriana. As bactérias são classificadas como morfotipos de *Lactobacillus* (bacilos longos gram-positivos); morfotipos de *Gardnerella vaginalis* e *Bacteriodes* sp (cocobacilos gram-negativos ou gram-variáveis) e morfotipos de *Mobiluncus spp* (bacilos curvos gram-negativos). Cada morfotipo é quantificado e graduado em uma escala de pontuação de 0 a 10, na qual um valor igual ou maior a 7 é considerado positivo para vaginose bacteriana.

Eventos adversos: qualquer evento, dano e/ou complicação inesperada ou não intencional que acontece durante, imediatamente após e até o final do tratamento e do estudo, observados pelos pesquisadores e/ou relatados pelas participantes.

De controle

Idade: idade em anos completos, referida no momento da primeira consulta.

Raça: autodeclarada pela participante, no momento da primeira consulta. Classificada em:

- Branca
- Não branca

Tabagismo: hábito de fumar cigarros, classificado em:

- Tabagista – fumante atual ou se parou de fumar há um ano ou menos
- Não tabagista

Tempo de menopausa: tempo, em anos, decorrido entre a data da última menstruação e o momento indicado da entrevista, referido pela participante.

Idade de menopausa: idade, em anos, em que a menopausa ocorreu, referida no momento da primeira consulta.

Antecedentes Obstétrico-Reprodutivos: aspectos obstétrico-reprodutivos da participante:

- Número de gestações durante a vida
- Número de partos normais durante a vida
- Número de partos cesarianas durante a vida
- Número de abortos sofridos durante a vida

Estado Marital: referido pela participante, classificado em:

- Solteira
- Casada
- Divorciada

Escolaridade: anos escolares completos referidos pela participante.

Profissão: referido pela participante, classificado em:

- Emprego remunerado
- Trabalho no lar
- Aposentada

Seleção de sujeitos

Foram selecionadas para participar deste estudo mulheres atendidas no Ambulatório de Menopausa do Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher (CAISM), da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), e voluntárias que demonstraram interesse em participar a partir dos processos de divulgação interna e externa, através do site institucional da universidade e redes sociais. As mulheres que preencheram os critérios de inclusão foram convidadas a participar do estudo. Todas aquelas que aceitaram participar foram randomizadas e assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo 4).

Critérios de Inclusão

- Queixa clínica de secura vaginal, associada ou não à dispareunia, ardência vaginal, prurido e/ou sintomas urinários
- Estar em amenorréia há, pelo menos, 12 meses
- Idade igual ou superior a 50 anos
- Não ter usado qualquer tipo de medicação hormonal para tratamento dos sintomas da menopausa nos últimos 6 meses

Critérios de Exclusão

- Recusa explícita em participar do estudo
- Apresentar contraindicação absoluta ou relativa para uso de estrogênio tópico: Absolutas (Infarto recente do miocárdio, hipertensão arterial grave, diabetes melitus de difícil controle, antecedente de moléstia tromboembólica, insuficiência hepática recente, ou grave, ou em atividade, câncer de mama prévio, câncer do endométrio prévio, câncer de colo uterino, hiperplasia mamária atípica, sangramento genital de origem desconhecida); ou Relativas (Antecedente familiar de câncer de mama, hiperplasia endometrial prévia, colelitíase).
- Apresentar sorologia positiva para HIV e condilomatose genital
- Radioterapia pélvica prévia
- Cirurgias no compartimento anterior, médio e posterior da vagina

Técnicas, testes e exames

Laser de CO₂ fracionado intravaginal: com a mulher em posição ginecológica, foi inserido o espéculo vaginal, realizada a limpeza das secreções das paredes vaginais e do colo uterino e introdução do aplicador. Para o tratamento da vagina, a aplicação do laser foi realizada com o aplicador cilíndrico de 360°, que permite que o laser atinja a parede vaginal por completo. Para os sintomas urinários, foi utilizado o aplicador 90° - 30°. O feixe de laser emitido interage com a mucosa vaginal, em pequenos pontos (DOTs), espaçados para cobrir toda a área a ser tratada. A luz penetra no tecido, na profundidade ajustada (SmartStack), promove a vaporização e libera energia em forma de calor (potência e tempo)⁴⁴.

Os parâmetros utilizados foram: Dermal Optical Thermolysis (DOT) power 40W; Dwell time 1000µs; Dermal Optical Thermolysis (DOT) spacing 1000µm; SmartStack Function: 2, para o aplicador 360°, e 3, para o aplicador 90° - 30°. Com o aplicador posicionado no canal vaginal, a cada disparo do laser, foram realizados movimentos de rotação e retirada do aplicador 360°, garantindo que toda a extensão do canal vaginal fosse tratada. O tratamento foi realizado ambulatorialmente, sem uso de lubrificantes ou anestésicos.

As sessões de laser foram realizadas sempre pelo mesmo pesquisador, com um intervalo mínimo de 30 e máximo de 45 dias entre elas. As participantes submetidas à aplicação do laser foram orientadas, após cada aplicação, a não frequentar praias ou piscinas e manter-se em abstinência sexual durante os 10 dias subsequentes ao tratamento. Em caso de dúvidas ou na ocorrência de qualquer efeito adverso ou complicação, as participantes foram instruídas a entrar em contato imediato com os pesquisadores responsáveis.

Citologia vaginal: com a participante em posição ginecológica foi introduzido espéculo, e, com a utilização de um swab estéril, colhida secreção vaginal da parede lateral da vagina. Foram colhidas duas lâminas de vidro: uma para bacterioscopia de secreção vaginal; e outra para análise citológica. A avaliação das lâminas foi cega, realizada sempre pelo mesmo microbiologista avaliador.

Instrumentos para coleta de dados

Ficha de coleta: foi elaborada uma ficha de coleta de dados com questionamentos sobre informações pessoais, sociodemográficas, de saúde e antecedentes obstétrico-reprodutivos da participante (Anexo 5).

Questionários Internacionais: a avaliação dos sintomas urinários foi realizada através de dois questionários internacionais, rápidos e autoaplicáveis, validados para a língua portuguesa. Os questionários foram aplicados na avaliação inicial e duas semanas após o final dos tratamentos propostos.

- *International Consultation on Incontinence Questionnaire - Short Form (ICIQ-UI SF)*⁴¹ e *International Consultation on Incontinence Questionnaire Overactive Bladder (ICIQ-OAB)*⁴².

Coleta de dados

A coleta de dados foi iniciada somente após aprovação pela Comissão de Pesquisa do Departamento de Tocoginecologia - CAISM e do Comitê de Ética Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Todas as mulheres foram previamente informadas do conteúdo do estudo. Todas aquelas que voluntariamente aceitaram participar assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo 4).

As mulheres incluídas foram aleatorizadas para um dos três grupos de intervenção propostos. Os dados foram coletados na avaliação inicial, antes do início da intervenção para qual a participante foi alocada, através dos instrumentos de coleta. As intervenções foram realizadas pelo período de doze semanas. Quinze dias após o final do tratamento, uma nova coleta foi realizada, utilizando-se sempre os mesmos instrumentos, testes e exames descritos.

Acompanhamento dos sujeitos

Após a seleção, as participantes realizaram a primeira visita, na qual foram submetidas à avaliação inicial, preenchimento dos questionários e realização de exames. As mulheres randomizadas para os grupos Promestrieno e Lubrificante, receberam a medicação e foram orientadas quanto ao uso correto da medicação.

Esses grupos foram contatados, via telefone, para verificar o uso correto da medicação e possível ocorrência de complicações e efeitos adversos. As participantes randomizadas para o grupo de LaserCO₂ foram submetidas à três aplicações de laser, a cada 30 a 45 dias. Previamente à primeira aplicação, foi realizada avaliação inicial, preenchimento dos questionários e realização de exames. As aplicações do laser de CO₂ fracionado foram realizadas na clínica de um dos pesquisadores responsáveis, uma vez que o aparelho encontra-se instalado e disponível neste local e pela dificuldade de entrada e permanência no Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher (CAISM). Após cada aplicação de laser, foi orientado às participantes não frequentar praias ou piscinas e manter-se em abstinência sexual durante os 10 dias subsequentes ao tratamento.

Quinze dias após o final dos tratamento foi realizada a avaliação final, preenchimento dos questionários e realização de exames. Todas as mulheres participantes desde estudo foram devidamente orientadas a, na ocorrência de qualquer complicação, efeito adverso ou dúvida, entrar em contato imediato com os pesquisadores responsáveis.

Critérios para descontinuação

As pacientes foram descontinuadas do estudo nas seguintes condições:

- Vontade de interromper e deixar de participar do estudo
- Presença de intolerância importante ao medicamento tópico ou ao laser, ou evento adverso sério

Processamento e análise dos dados

Os dados foram digitados em uma planilha Excel, com dupla conferência. Para descrever as características da amostra, segundo as variáveis em estudo, foram feitas tabelas de frequência das variáveis categóricas, com valores de frequência absoluta (n) e percentual (%), e estatísticas descritivas das variáveis numéricas, com valores de média, desvio padrão, valores mínimo e máximo, mediana e quartis.

Para comparação das variáveis categóricas entre os 3 grupos foram utilizados os testes Qui-Quadrado ou exato de Fisher (para valores esperados menores que 5). Para comparação das variáveis numéricas entre os 3 grupos foi utilizado o teste de

Kruskal-Wallis, devido à ausência de distribuição normal das variáveis. Para comparar os escores entre grupos e tempos foi usada a análise de variância para medidas repetidas, seguida dos testes de Tukey e de perfil por contrastes, com variáveis transformadas em postos/*ranks* devido à ausência de distribuição normal.

Para comparar as variáveis categóricas entre antes e após o tratamento foram usados o teste de McNemar e o teste de simetria de Bowker para amostras relacionadas. Para comparação das variáveis numéricas entre antes e após o tratamento foi usado o teste de Wilcoxon para amostras relacionadas, devido à ausência de distribuição normal das variáveis. Para as análises estatísticas foi utilizado o método *Intention-to-Treat* (ITT). O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi de 5% e para análises foi utilizado o software *The SAS System for Windows*, versão 9.2.

Controle de Qualidade

O equipamento de laser é constantemente submetido à verificação e manutenções a fim de garantir o controle de qualidade da técnica utilizada. Além disso, as participantes foram submetidas à aplicação dos tratamentos sempre pelo mesmo pesquisador para que os dados fossem avaliados sempre da mesma forma. Os medicamentos tópicos fornecidos as pacientes dos grupos 2 – Promestrieno e 3 – Lubrificante Vaginal foram do mesmo fabricante (Antrofi® e KY®) para todas as mulheres, para garantir a manutenção da qualidade do produto utilizado. As fichas foram preenchidas e revisadas pelos pesquisadores responsáveis e a digitação dos dados foi duplamente conferida para evitar erros e inconsistências. A avaliação das lâminas foi realizada pelo mesmo microbiólogo avaliador, sem qualquer identificação conhecida por ele (cego) das participantes e dos grupos de tratamento.

Considerações Éticas

Essa pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Plataforma Brasil, CAAE: 63218716.0.0000.5404 (Anexo 6). A pesquisa cumpriu ainda os princípios éticos da Declaração de Helsinki (2000) e a resolução 466/2012 do Ministério da Saúde (Brasil, 2012). As participantes foram convidadas a participar do estudo de livre e espontânea vontade e receberam todas as orientações sobre seu

conteúdo e finalidade. Foi lido e explicado, logo no início da entrevista, o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) (Anexo 4). Neste termo constam informações claras e acessíveis a respeito dos benefícios, possíveis riscos e inconvenientes dos tratamentos. O Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) foi assinado por todas as participantes, em duas vias, uma para arquivo e outra para participante. As orientações contidas no *Consolidated Standards of Reporting Trials* (CONSORT) foram observados e o estudo foi catalogado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (Rebec) (UTN: U1111-1220-1620).

Foi garantido o sigilo das informações e o direito de retirar o consentimento, a qualquer momento, sem qualquer tipo de prejuízo na sua assistência na instituição. As participantes receberam o tratamento de forma gratuita e auxílio, na forma de vale-transporte e vale-alimentação, quando necessário. A documentação referente à pesquisa está mantida em sigilo, em local seguro, e será destruída em um prazo de cinco anos.

4. RESULTADOS

Os resultados desta tese serão apresentados em dois artigos científicos:

Artigo 1 – Efficacy of fractional CO2 laser, promestriene and vaginal lubricant in the treatment of urinary symptoms of postmenopausal women: Randomized Clinical Trial

Submetido à *Lasers in Surgery and Medicine*

Artigo 2 – Effects of CO2 Laser, promestriene and lubricant on Vaginal Ecosystem of postmenopausal women: Randomized Clinical Trial

Submetido à *Climacteric*

Artigo 1

ScholarOne Manuscripts™

Lúcia Costa-Paiva | Instructions & Forms | Help | Log Out

Lasers in Surgery and Medicine

Home | **Author** | Review

Author Dashboard / Submission Confirmation

Submission Confirmation

[Print](#)

Thank you for your submission

Submitted to: Lasers in Surgery & Medicine

Manuscript ID: LSM-18-0321

Title: Efficacy of fractional CO₂ laser, promestriene, and vaginal lubricant in the treatment of urinary symptoms in postmenopausal women: A randomized clinical trial

Authors: Aguiar, Luíza
Politano, Carlos
Costa-Paiva, Lúcia
Juliano, Cássia

Date Submitted: 30-Dec-2018

[Author Dashboard >](#)

SCHOLARONE™

Clarivate
Analytics

© Clarivate Analytics | © ScholarOne, Inc., 2018. All Rights Reserved.
ScholarOne Manuscripts and ScholarOne are registered trademarks of ScholarOne, Inc.

ScholarOne Manuscripts Patents #7,257,767 and #7,263,655.

[@ScholarOneNews](#) |
 [System Requirements](#) |
 [Privacy Statement](#) |
 [Terms of Use](#)

Efficacy of fractional CO₂ laser, promestriene, and vaginal lubricant in the treatment of urinary symptoms in postmenopausal women: A randomized clinical trial

Running Title: Fractional laser CO₂ for GSM

Luiza Borges Aguiar¹; Carlos Alberto Politano¹; Lúcia Costa-Paiva¹; Cássia Teatin Juliato¹

1. Department of Obstetrics and Gynecology, State University of Campinas, SP, Brazil

E-mails:

Luiza Borges Aguiar: ftluizaborges@gmail.com

Carlos Alberto Politano: cpolitano@clnicapolitano.com.br

Lúcia Helena Simões da Costa Paiva: paivaepaiva@uol.com.br

Cássia Raquel Teatin Juliato: cassia.raquel@gmail.com

Corresponding author:

Lúcia Costa Paiva

Department of Gynecology and Obstetrics, State University of Campinas

Rua Alexander Fleming, 101

13083-881 Campinas-SP, Brazil

Phone: +55-19-3521-9306

E-mail: paivaepaiva@uol.com.br

Conflict of interest: The authors declares that there is no conflict of interest.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the efficacy of the fractional CO₂ laser, promestriene, and vaginal lubricant to treat urinary symptoms in women with genitourinary syndrome of menopause (GSM).

Methods: We conducted a randomized clinical trial with 72 postmenopausal women aged 50 years or older. The participants were randomized into three treatment groups: laserCO₂, promestriene, and vaginal lubricant. Urinary symptoms were assessed prior to treatment and 2 weeks after treatment conclusion using validated questionnaires, the International Consultation on Incontinence Questionnaire (ICIQ-UI SF), and the International Consultation on Incontinence Questionnaire Overactive Bladder (ICIQ-OAB).

Results: After 14 weeks of follow-up, there was a significant reduction in the total ICIQ-UI SF score in the intragroup comparison (baseline vs. week 14) of the laserCO₂ group ($p=0.004$). This group also showed a significant reduction in nocturia (1.33 ± 0.87 vs. 1.00 ± 0.76 , respectively; $p=0.031$). In the intergroup comparison after treatment, nocturia in the lubricant group had worsened compared to that in the other two groups ($p=0.002$; $p\Delta=0.004$). Regarding the total ICIQ-OAB score, the results for the laserCO₂ group were superior to those of the lubricant group in the intergroup comparison (7.76 ± 3.36 , $p=0.020$; analysis of variance $p=0.038$).

Conclusion: Fractional laser CO₂ treatments were proven to be effective and minimally invasive alternatives for managing urinary symptoms in GSM.

Keywords: fractional CO₂ laser; genitourinary syndrome of menopause; vulvovaginal atrophy; urinary incontinence; overactive bladder; estrogen

INTRODUCTION

The transition from the reproductive to the non-reproductive period of a woman's life is known as the climacteric period, which involves several physiological, histological, and clinical changes. These changes result from a progressive reduction in ovarian estrogen production^{1,2}.

Menopause and aging are important risk factors for urinary symptoms such as urgency, frequency, nocturia, incontinence, dysuria, and recurrent infections³⁻⁵. These symptoms compromise quality of life (QOL), sexual function, and social life and constitute some of the signs and symptoms characterizing Genitourinary Syndrome of Menopause (GSM)⁶⁻¹⁰. The lower urinary tract, as well as the genital region and most structures involved in the continence process, have large numbers of estrogen receptors. With reduced levels of this circulating hormone, various morphological, histological, anatomical, and collagen alterations compromise vaginal and urinary tract health and pelvic floor muscle strength^{7,11-13}.

Urinary incontinence is defined as involuntary loss of urine. Stress urinary incontinence (SUI) results when this loss is related to activities that initiate Valsalva maneuvers, such as coughing, sneezing, and/or certain physical activities. Overactive bladder (OAB) is characterized by urgency, increased urinary frequency, and nocturia, with or without incontinence, in the absence of pathologies that otherwise justify this clinical picture¹⁴. SUI is the most common type of incontinence. The prevalence, estimated between 25% and 35%, increases with age and peaks during the fifth decade of life¹⁵⁻²⁰. Symptoms related to urinary loss because of poor muscular control, such as nocturia, urgency, and urge-incontinence, cause significant impairment in the QOL of affected women²¹.

Several treatment options are available, including medications such as antimuscarinic drugs, as well as surgical correction²¹. Topical estrogen therapy is currently the treatment of choice for GSM and is useful in the treatment of urgency and overactive bladder due to genital and urinary tract sensitivities to reduced estrogen levels^{22,23}. In cases of moderate to severe stress urinary incontinence, surgical correction is recommended. However, surgery can be accompanied by complications such as

bleeding, dyspareunia, and bladder perforation. Many such patients desire conservative or minimally invasive treatment to improve their QOL²⁴.

Fractional CO₂ laser therapy has emerged as a new modality for rapid, easily supportable, and minimally invasive treatment of GSM. The regenerative effects also involve the urinary tract. It is effective for treating OAB symptoms⁶. Laser therapy promotes remodeling and production of new collagen fibers, which is fundamental for maintaining the supporting structures of the pelvic floor^{15,25}. Despite data showing that fractional CO₂ laser treatments are useful and minimally invasive alternatives for treating SUI, a consensus regarding its efficacy is lacking due to the low-quality scientific evidence available^{15,25,26}.

This study evaluated and compared the symptoms of stress urinary loss, nocturia, urgency, and urge incontinence before and after treatment with fractional CO₂ laser, promestriene, and vaginal lubricant (control group) in women with GSM.

METHODS

This study is part of a larger clinical trial that evaluated several aspects of GSM; herein, we report the results related to urinary complaints of these women.

Sample size

When this protocol was developed, no studies were found comparing the use of CO₂ laser and topical estrogen and vaginal lubricant. Therefore, the results of prospective, open, pilot intervention studies using fractionated CO₂ laser and those without comparison groups were the basis for the initial sample calculation²⁷. Considering changes in vaginal health before and after laser use, with a standard deviation of 2.5 and the comparisons and analyses proposed, a sample of at least 20 patients per group was suggested. The sample was increased by 20% to cover possible losses to follow-up, totaling 72 patients randomized into 24 patients per group.

Design and Study Population

This randomized clinical trial was conducted at the Center for Comprehensive Attention to Women's Health (CAISM) of the State University of Campinas (UNICAMP), São Paulo - Brazil, between March 2017 and November 2018. The study protocol was approved by the Ethics Committee of the Faculty of Medical Sciences of the State

University of Campinas - Unicamp (CAAE: 56634016.0.0000.5404) and all participants signed the Free and Informed Consent Term. The guidelines contained in the Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT) were observed and the study was cataloged in the Brazilian Registry of Clinical Trials (Rebec) (UTN: U1111-1220-1620).

The study population comprised women aged 50 years or older, who were amenorrheic for at least one year, with clinical complaints of vaginal dryness or urinary symptoms related to GSM, and who did not use hormonal treatment for at least prior last six months. Women meeting any of the following criteria were excluded: declined to participate; absolute or relative contraindications to the use of topical estrogen; positive HIV serology; genital condylomatosis; previous pelvic radiotherapy; surgeries in the anterior, middle or posterior compartments of the vagina.

Randomized and Interventions

Participants were randomized into three treatment groups: group 1 - intravaginal fractional CO₂ laser; group 2 - promestriene; group 3 - vaginal lubricant. Randomization was performed in a 1:1 ratio according to a randomization sequence performed using the Microsoft Excel program for Windows 2007 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA).

Participants in Group 1 were administered three treatments with fractionated CO₂ laser (SmartXide² V²LR System, Monalisa Touch, Deka, Florence, Italy) by specified researchers, with a minimum interval of 30 days and a maximum of 45 days between them.

Women allocated to Group 2 self-administered 10 mg of vaginal promestriene, three times weekly for 12 weeks. Participants in Group 3 used topical lubricant gel, applied with sexual activity over a period of 12 weeks. The groups were contacted via telephone to verify the correct use of the therapies and to identify any complications or adverse effects. Participants from the three intervention groups were instructed to contact the investigators immediately in case of doubts, complications, and/or adverse effects. Two weeks after the end of the treatments (week 14), all women underwent final evaluations, questionnaire completion, and examinations.

LaserCO₂ Procedure

The laser administrations were performed on an outpatient basis, without the use of lubricants or anesthetics. With the patient in dorsal lithotomy position, a speculum was inserted to clean the vaginal and cervical secretions. We used a cylindrical 360° applicator to administer the laser therapy as it allowed treatment of the entire vaginal wall. To treat the urinary symptoms, the 90° - 30° applicator was used. The parameters used were: Dermal Optical Thermolysis (DOT) power 40W; Dwell time 1000µs; Dermal Optical Thermolysis (DOT) spacing 1000µm; Smart Stack Function: 2 for applicator 360°, and 3 for applicator 90° - 30°. After the introduction of the 360° applicator, rotation and withdrawal movements were performed with each administration, ensuring that the entire length of the vaginal canal was treated. After each laser application, the women were instructed not to go to beaches or swimming pools and to abstain from sexual intercourse during the 10 days following the treatment.

Study outcomes

The symptoms of stress urinary loss, increased urinary frequency, nocturia, urgency, and urge-incontinence were assessed using the validated International Consultation on Incontinence Questionnaire - Short Form (ICIQ-UI SF)²⁸ and International Consultation on Incontinence Questionnaire Overactive Bladder (ICIQ-OAB)²⁹ before treatment and after 14 weeks.

The International Consultation on Incontinence Questionnaire (ICIQ-UI SF) is a self-administered questionnaire comprising four questions that assess the frequency and severity of urinary loss and the impact of SUI on QOL. In the last question, eight items related to the causes of and situations surrounding urinary loss were presented. The scores varied between zero and 21 and higher scores were associated with worse urinary incontinence.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed according to the Intent to Treat (ITT) methodology. Continuous variables are expressed as means ($\pm$ standard deviations) and categorical variables as numbers or percentages. To compare the categorical variables among the three groups, chi-Square or Fisher's exact tests were used (for expected values less than 5). Comparison of numerical variables between the three groups was

performed using the Kruskal-Wallis test due to the absence of a normal distribution of the variables. To compare the scores between the groups and times, we used analysis of variance for repeated measures, followed by the Tukey and contrast profile tests, with variables transformed into ranks and ranks due to the absence of a normal distribution. The McNemar test and the Bowker symmetry test were used to compare categorical variables between pre- and post-treatment for related samples. Comparison of numerical variables before and after treatment was performed using the Wilcoxon test for related samples, due to the absence of a normal distribution of the variables. The significance level adopted for the statistical tests was 5% and the SAS System for Windows, version 9.2 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA) was used for the statistical analysis.

RESULTS

In total, 267 women were recruited to participate in the study. Of those, only 72 met the inclusion criteria and were randomized into the treatment groups (Figure 1). The mean age of the participants was 57.28 ($\pm$ 5.15) years, with no significant difference between groups ($p=0.817$). The mean duration of menopause time among the participants was 9.30 ($\pm$ 6.35) years and the mean age at menopause onset was 48.14 ($\pm$ 5.53) years. The majority of the participants (77.78%) were self-declared Caucasian; however, there was a higher percentage of non-Caucasians in the promestriene and lubricant groups ($p=0.043$). The socio-demographic and clinical data are presented in Table 1.

Table 2 shows the urinary symptoms in the entire population and the symptoms by groups. Of the 72 participants, 80.55% reported some stress-related urinary loss (score $\geq$ 1). Of those patients with some loss, 56.94% reported urinary loss that considerably interfered with their daily life (score $\geq$ 5 on the visual scale). Increased urinary frequency ($\geq$ 9 times a day) was reported by 38.89% of the participants, 48.61% had nocturia ($\geq$ 2 times a night), 62.50% reported urgency (score $\geq$ 2), and 81.94% reported urge-incontinence (score $\geq$ 1).

Table 3 shows the stress-related urinary loss symptom scores from the ICIQ-UI SF. When evaluating the effects of the treatments in each group alone, there was a reduction in the frequency of urinary loss (2.08 ± 1.61 vs. 1.36 ± 1.33 , $p=0.021$), in the

interference of urinary losses in life (4.75 ± 3.90 vs. 3.45 ± 3.02 , $p=0.020$) and the total pre vs. post-treatment in the laserCO₂ group only (8.92 ± 6.55 vs. 6.45 ± 4.67 , $p=0.004$, $p^{\text{anova}}=0.012$). Although the comparison of post-treatment scores between the groups showed a significant difference between the laserCO₂ and lubricant groups ($p=0.028$), this difference was not confirmed in the analysis of variance (ANOVA) of repeated measurements ($p=0.116$).

With regard to the characteristic symptoms of OAB, evaluated using the ICIQ-OAB, the laserCO₂ group showed a significant reduction in nocturia after treatment (1.33 ± 0.87 vs. 1.00 ± 0.76), $p=0.031$) that was statistically significant when compared to the other treatment groups ($p=0.002$, $p\Delta=0.004$). No significant improvements were observed in any other item of the questionnaire in the intragroup and pre- and post-treatment scores. In the comparison of the total post-treatment score between the groups, the laserCO₂ group was superior to the lubricant group, but without difference compared with the promestriene group (7.76 ± 3.36 , $p=0.020$, $p^{\text{anova}}=0.038$) (Table 4). Of the 72 women included, two women from the laserCO₂ group, five from the promestriene group, and eight from the lubricant group discontinued their participation in the study before 12 weeks. All treatment proposals were well-tolerated by the women. One participant discontinued the use of the vaginal lubricant due to allergic vaginitis in week 4 and the study protocol was immediately discontinued. No other adverse effects were observed or reported in any of the treatment groups.

DISCUSSION

This clinical trial, conducted to evaluate the effects of fractionated CO₂ laser treatment compared to vaginal promestriene and vaginal lubricant on symptoms of stress urinary loss, nocturia, urgency, and urge-incontinence in women with GSM, showed superiority of CO₂ laser in the improvement of some symptoms compared with the other proposed interventions.

GSM results in vulvar and vaginal alterations, characterized by thin pale and dry mucosae, which are secondary to hypoestrogenism. These changes are responsible for problematic symptoms such as vaginal dryness, burning, dyspareunia, incontinence, and urinary urgency, which can progressively worsen and affect about 20% to 45% of women in the climacteric phase^{30,31}. Studies such as Vaginal Health: Insights, Views & Attitudes (VIVA)³² and Real Women's Views of Treatment Options

for Menopausal Vaginal Changes (REVIVE)³³ demonstrated the negative impact of vulvovaginal atrophy on postmenopausal women's lives.

Recently, intravaginal fractional laserCO₂ therapy has been proposed as a promising alternative for treating GSM with and without urinary symptoms. The intravaginal laser reaches the three layers of the vagina, stimulating the extracellular matrix, restoring the trophism of the mucosa, and stimulating the production of elastin and collagen fibers. This regenerative effect probably also affects the lower urinary tract and promotes improvement in urogenital symptoms that are caused by hypoestrogenism and aging^{6,15}.

In the present study, a significant reduction in the total ICIQ-UI SF score was observed only in the LaserCO₂ group ($p=0.004$). Our results agree with those of other studies that reported reductions in total ICIQ-UI SF scores in women with mild to moderate urinary incontinence^{15,25,26}. A systematic review that involved 13 studies, most of which were observational, case-control or case reports, showed that laser therapy can provide a useful and minimally invasive approach. However, that review concluded that the quality of evidence remains low because of the methodological limitations of the studies²⁶.

There was an improvement in nocturia and the total ICIQ-OAB score in the laserCO₂ group, with no statistically significant difference from the promestriene group; however, the improvement was greater than that in the lubricant group. A prospective study on the effectiveness of CO₂ fractionated lasers for OAB treatment showed that the laser was effective for improving OAB symptoms in 30 postmenopausal women. Participants who underwent three laser sessions experienced improvements in urinary frequency and episodes of urgency. In women with urge-incontinence, a significant reduction in episodes of daily urinary loss was observed⁶.

Estrogen therapy is widely used to treat OAB symptoms consequent to menopause³⁴. The beneficial effects of this therapy occur because the vaginal and urinary epithelium have the same embryological origin. Both have large numbers of estrogen receptors, which directly affect continence mechanisms^{6,35}.

A systematic review, conducted by the Cochrane Library, included 34 clinical trials of local and systemic estrogen therapy for the treatment of SUI, urgency, mixed and non-specific urinary incontinence in postmenopausal women. Of the 19,676 incontinent women included in those studies, 9,599 of them received topical estrogen therapy. The

study concluded that oral hormone therapy may be a risk factor and may even worsen type-independent urinary incontinence, whereas topical estrogen therapy showed beneficial effects in incontinence³⁶.

Another systematic review evaluated different types, doses, and routes of administration of hormonal therapy and their effects on urinary symptoms. The results showed that topical hormonal therapy was superior to systemic therapy, with improvement in urinary frequency, nocturia, urgency, bladder capacity and SUI^{1,34,37-39}.

Contrary to the evidence found in the literature, the present study did not show an improvement in urinary symptoms with topical estrogen therapy^{1,37-39}. One of the possible reasons for the lack of response to hormonal treatment in the present study may be related to the length of follow-up needed to realize the estrogenic action. The short-term and type of hormone used in this study may have affected the treatment response results because currently no evidence regarding effects of different types of topical estrogens is available.

In December 2018, the International Urogynecological Association (IUGA) committee published an opinion regarding the intravaginal use of laser devices to treat SUI, GSM, and vaginal flaccidity. The committee concluded that although laser devices are a promising technology, using this technology for these purposes should only be routinely indicated after sufficient and strong evidence from randomized clinical trials has demonstrated its efficacy and safety in the long-term⁴⁰.

This study had some limitations, such as the small sample size and the short follow-up duration. The population evaluated presented with mild urinary symptoms and low total scores on both the ICIQ-UI SF and ICIQ-OAB. Participant compliance with vaginal cream use was high and satisfactory in this study. However, this may have been overestimated because compliance was based on women's self-reported medication usage. Under ideal conditions, this self-reporting is disadvantageous in this type of study. Another limitation is related to the small statistical difference in ethnicity, since the laserCO₂ group included a smaller percentage of women who declared themselves to be non-Caucasian. It is important to emphasize that Brazil is a country of intense miscegenation and, although biases exist, self-report has been the best strategy for ethnicity classification.

The strength of the present study was its randomized clinical trial design and inclusion of a control group. This allowed evaluation of treatment effectiveness with greater control over potential biases. We also compared CO₂ laser with topical estrogen treatments, which is considered the gold standard treatment for atrophy-related problems in GSM. To our knowledge, this is the first randomized clinical trial comparing the effects of fractionated CO₂ laser therapy and local vaginal estrogen therapy for the treatment of urinary symptoms in these women.

We observed no complications or short-term adverse effects with CO₂ laser therapy in the present study. These results corroborate with others in the literature that have shown an incidence of complications below 3% after 18-24 months follow-up^{41,42}.

CONCLUSIONS

Intravaginal fractional CO₂ laser treatment is an effective and minimally invasive therapeutic modality that seemed to be superior to topical estrogen for treating urinary symptoms related to GSM. These results add to the growing literature on laser applicability and present new perspectives for treating urinary problems in GSM. Further controlled and randomized studies with larger sample sizes and longer follow-up periods are needed to investigate the efficacy and safety of this long-term treatment modality. Intravaginal fractional CO₂ laser and other conventional modalities, including surgical treatments must be compared.

REFERENCES

1. Management of symptomatic vulvovaginal atrophy: 2013 position statement of The North American Menopause Society. *Menopause*. 2013;20(9):888-902; quiz 3-4.
2. Zerbinati N, Serati M, Origoni M, Candiani M, Iannitti T, Salvatore S, et al. Microscopic and ultrastructural modifications of postmenopausal atrophic vaginal mucosa after fractional carbon dioxide laser treatment. *Lasers Med Sci*. 2015;30(1):429-36.
3. Frank SM, Ziegler C, Kokot-Kierepa M, Maamari R, Nappi RE. Vaginal Health: Insights, Views & Attitudes (VIVA) survey - Canadian cohort. *Menopause Int*. 2013;19(1):20-7.
4. Trutnovsky G, Rojas RG, Mann KP, Dietz HP. Urinary incontinence: the role of menopause. *Menopause*. 2014;21(4):399-402.
5. Tzur T, Yohai D, Weintraub AY. The role of local estrogen therapy in the management of pelvic floor disorders. *Climacteric*. 2016;19(2):162-71.
6. Perino A, Cucinella G, Gugliotta G, Saitta S, Polito S, Adile B, et al. Is vaginal fractional CO₂ laser treatment effective in improving overactive bladder symptoms in post-menopausal patients? Preliminary results. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2016;20(12):2491-7.
7. Varella LR, Bezerra da Silva R, Eugênia de Oliveira MC, Melo PH, Maranhão TM, Micussi MT. Assessment of lower urinary tract symptoms in different stages of menopause. *J Phys Ther Sci*. 2016;28(11):3116-21.
8. Felipe MR, Zambon JP, Girotti ME, Burti JS, Hacad CR, Cadamuro L, et al. What Is the Real Impact of Urinary Incontinence on Female Sexual Dysfunction? A Case Control Study. *Sex Med*. 2017;5(1):e54-e60.
9. Blaganje M, Šćepanović D, Žgur L, Verdenik I, Pajk F, Lukanović A. Non-ablative Er:YAG laser therapy effect on stress urinary incontinence related to quality of life and sexual function: A randomized controlled trial. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2018;224:153-8.
10. Robinson D, Cardozo LD. The role of estrogens in female lower urinary tract dysfunction. *Urology*. 2003;62(4 Suppl 1):45-51.
11. Quinn SD, Domoney C. The effects of hormones on urinary incontinence in postmenopausal women. *Climacteric*. 2009;12(2):106-13.

12. Calleja-Agius J, Brincat MP. The urogenital system and the menopause. *Climacteric*. 2015;18 Suppl 1:18-22.
13. Juliato CR, Baccaro LF, Pedro AO, Costa-Paiva L, Lui-Filho J, Pinto-Neto AM. Subjective urinary urgency in middle age women: A population-based study. *Maturitas*. 2016;85:82-7.
14. Haylen BT, de Ridder D, Freeman RM, Swift SE, Berghmans B, Lee J, et al. An International Urogynecological Association (IUGA)/International Continence Society (ICS) joint report on the terminology for female pelvic floor dysfunction. *Neurourol Urodyn*. 2010;29(1):4-20.
15. González Isaza P, Jaguszewska K, Cardona JL, Lukaszuk M. Long-term effect of thermoablative fractional CO. *Int Urogynecol J*. 2018;29(2):211-5.
16. Luber KM. The definition, prevalence, and risk factors for stress urinary incontinence. *Rev Urol*. 2004;6 Suppl 3:S3-9.
17. España-Pons M, Ros C, Ortega JA, Aliaga F, Pérez-González A, Palau MJ, et al. Prevalence, incidence, and remission rates of urinary incontinence in women attended in gynecological practice. *Neurourol Urodyn*. 2017;36(4):1081-5.
18. Minassian VA, Bazi T, Stewart WF. Clinical epidemiological insights into urinary incontinence. *Int Urogynecol J*. 2017;28(5):687-96.
19. Lapii GA, Yakovleva AY, Neimark AI. Structural Reorganization of the Vaginal Mucosa in Stress Urinary Incontinence under Conditions of Er:YAG Laser Treatment. *Bull Exp Biol Med*. 2017;162(4):510-4.
20. Weber MA, Lim V, Oryszczyn J, Te West N, Souget J, Jeffery S, et al. The Effect of Vaginal Oestriol Cream on Subjective and Objective Symptoms of Stress Urinary Incontinence and Vaginal Atrophy: An International Multi-Centre Pilot Study. *Gynecol Obstet Invest*. 2017;82(1):15-21.
21. Tomaszewski J. Postmenopausal overactive bladder. *Prz Menopauzalny*. 2014;13(6):313-29.
22. Robinson D, Cardozo L. Estrogens and the lower urinary tract. *Neurourol Urodyn*. 2011;30(5):754-7.
23. Singh S, van Herwijnen I, Phillips C. The management of lower urogenital changes in the menopause. *Menopause Int*. 2013;19(2):77-81.
24. Hardy LA, Chang CH, Myers EM, Kennelly MJ, Fried NM. Computer simulations of thermal tissue remodeling during transvaginal and transurethral laser

treatment of female stress urinary incontinence. *Lasers Surg Med.* 2017;49(2):198-205.

25. Conté C, Jauffret T, Vieillefosse S, Hermieu JF, Deffieux X. Laser procedure for female urinary stress incontinence: A review of the literature. *Prog Urol.* 2017;27(17):1076-83.

26. Pergialiotis V, Prodromidou A, Perrea DN, Doumouchtsis SK. A systematic review on vaginal laser therapy for treating stress urinary incontinence: Do we have enough evidence? *Int Urogynecol J.* 2017;28(10):1445-51.

27. Salvatore S, Nappi RE, Zerbinati N, Calligaro A, Ferrero S, Origoni M, et al. A 12-week treatment with fractional CO2 laser for vulvovaginal atrophy: a pilot study. *Climacteric.* 2014;17(4):363-9.

28. Tamanini JT, Dambros M, D'Ancona CA, Palma PC, Rodrigues Netto N. [Validation of the "International Consultation on Incontinence Questionnaire -- Short Form" (ICIQ-SF) for Portuguese]. *Rev Saude Publica.* 2004;38(3):438-44.

29. Pereira SB, Thiel RoR, Riccetto C, Silva JM, Pereira LC, Herrmann V, et al. [Validation of the International Consultation on Incontinence Questionnaire Overactive Bladder (ICIQ-OAB) for Portuguese]. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2010;32(6):273-8.

30. Lindau ST, Schumm LP, Laumann EO, Levinson W, O'Muircheartaigh CA, Waite LJ. A study of sexuality and health among older adults in the United States. *N Engl J Med.* 2007;357(8):762-74.

31. Santoro N, Komi J. Prevalence and impact of vaginal symptoms among postmenopausal women. *J Sex Med.* 2009;6(8):2133-42.

32. Nappi RE, Kokot-Kierepa M. Vaginal Health: Insights, Views & Attitudes (VIVA) - results from an international survey. *Climacteric.* 2012;15(1):36-44.

33. Kingsberg SA, Wysocki S, Magnus L, Krychman ML. Vulvar and vaginal atrophy in postmenopausal women: findings from the REVIVE (REal Women's Views of Treatment Options for Menopausal Vaginal ChangEs) survey. *J Sex Med.* 2013;10(7):1790-9.

34. Cardozo L, Lose G, McClish D, Versi E. A systematic review of the effects of estrogens for symptoms suggestive of overactive bladder. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2004;83(10):892-7.

35. Robinson D, Tooze-Hobson P, Cardozo L. The effect of hormones on the lower urinary tract. *Menopause Int.* 2013;19(4):155-62.
36. Cody JD, Jacobs ML, Richardson K, Moehrer B, Hextall A. Oestrogen therapy for urinary incontinence in post-menopausal women. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;10:CD001405.
37. Salvatore S, Leone Roberti Maggiore U, Athanasiou S, Origoni M, Candiani M, Calligaro A, et al. Histological study on the effects of microablative fractional CO2 laser on atrophic vaginal tissue: an ex vivo study. *Menopause.* 2015;22(8):845-9.
38. Hutchinson-Colas J, Segal S. Genitourinary syndrome of menopause and the use of laser therapy. *Maturitas.* 2015;82(4):342-5.
39. Athanasiou S, Pitsouni E, Antonopoulou S, Zacharakis D, Salvatore S, Falagas ME, et al. The effect of microablative fractional CO2 laser on vaginal flora of postmenopausal women. *Climacteric.* 2016;19(5):512-8.
40. Shobeiri SA, Kerkhof MH, Minassian VA, Bazi T, Committee IRaD. IUGA committee opinion: laser-based vaginal devices for treatment of stress urinary incontinence, genitourinary syndrome of menopause, and vaginal laxity. *Int Urogynecol J.* 2018.
41. Gambacciani M, Levancini M, Cervigni M. Vaginal erbium laser: the second-generation thermotherapy for the genitourinary syndrome of menopause. *Climacteric.* 2015;18(5):757-63.
42. Gambacciani M, Levancini M, Russo E, Vacca L, Simoncini T, Cervigni M. Long-term effects of vaginal erbium laser in the treatment of genitourinary syndrome of menopause. *Climacteric.* 2018;21(2):148-52.

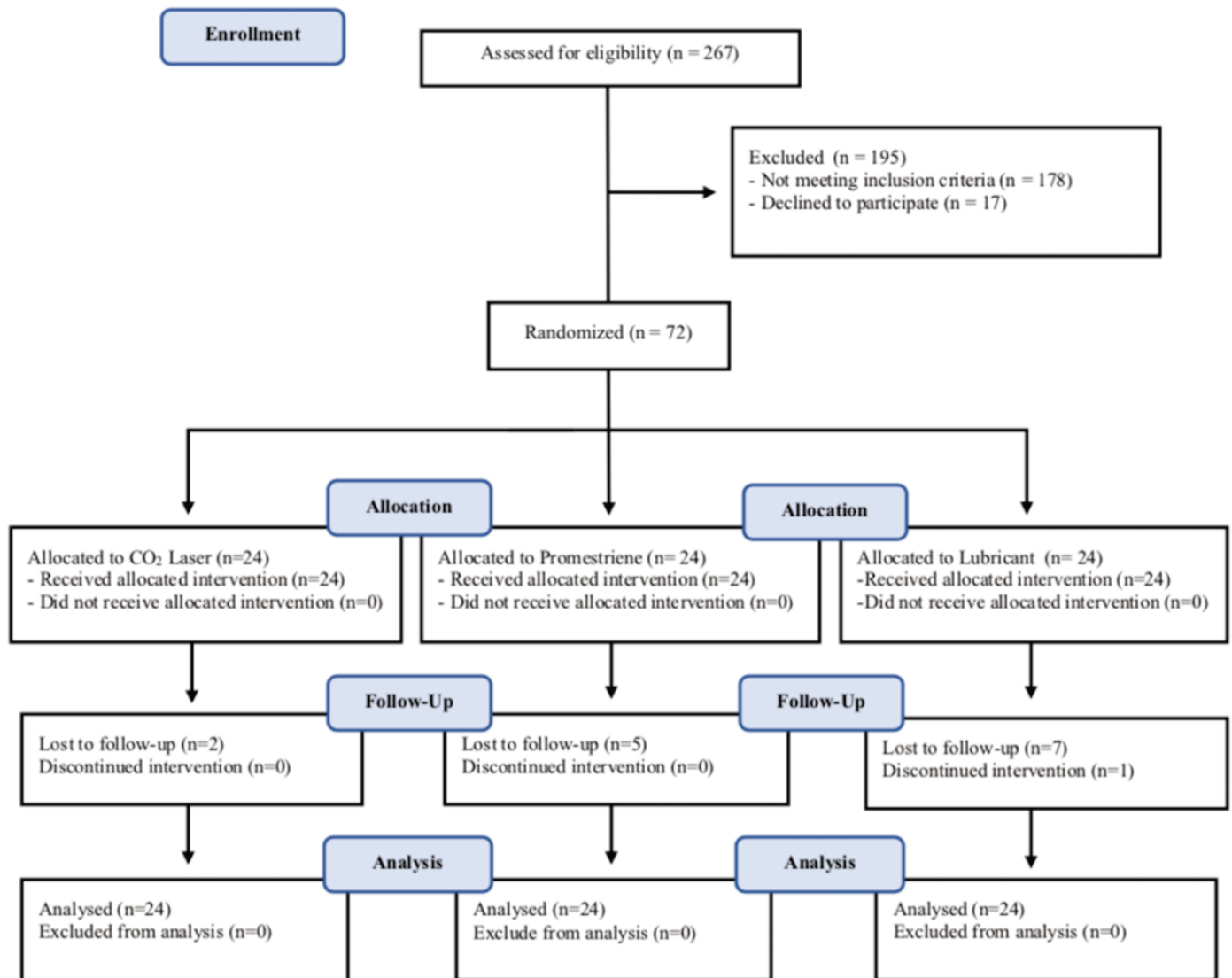


Figure 1 – Consort Flow Diagram

Table 1 – Clinical and sociodemographic characteristics by group (n = 72)

Characteristics	Laser (n = 24)		Promestriene (n = 24)		Lubricant (n = 24)		p
Age (57,28 ± 5,15)	57,83 ± 5,01		57,21 ± 5,26		56,79 ± 5,33		0,784
Time of menopause (9,30 ± 6,35)	9,35 ± 4,61		9,96 ± 7,35		8,58 ± 6,89		0,446
Age of menopause (48,14 ± 5,53)	48,91 ± 4,09		47,21 ± 6,62		48,33 ± 5,62		0,747
Race (%)							
Causasian	23	95,83	16	66,67	17	70,83	0,043
Non-caucasian	1	4,17	8	33,33	7	29,17	
Smoking (%)							
Smoker / ex-smoker	5	20,83	8	33,33	9	37,50	0,792
Non-smoker	19	79,17	16	66,67	15	62,50	
Parity (%)							
0	1	4,16	3	12,50	2	8,33	0,865
1	4	16,67	4	16,67	3	12,50	
≥ 2	19	79,17	17	70,83	19	79,17	
Marital status (%)							
Single	0	0	3	12,50	2	8,33	0,148
Married	16	66,67	18	75,00	19	79,17	
Divorced	8	33,33	3	12,50	3	12,50	
Profission (%)							
Paid employment	15	62,50	16	66,67	17	70,83	0,759
Work at Home	4	16,67	6	25,00	4	16,67	
Retired	5	20,83	2	8,33	3	12,50	

Table 2 – Urinary symptoms at baseline by groups

	Laser (n=24)	Promestriene (n=24)	Lubricant (n=24)	Total (n=72)
Stress urinary loss (frequency)				
(score ≥ 1)	18 (75,00%)	19 (79,16%)	21 (87,50%)	58 (80,55%)
Amount of urine lost				
Small amount	13 (54,16%)	14 (58,33%)	14 (58,33%)	41 (56,94%)
Moderate and large amount	5 (20,83%)	6 (25,00%)	6 (25,00%)	17 (23,61%)
Interference in daily life				
(score ≥ 5)	13 (54,16%)	13 (54,16%)	15 (62,50%)	41 (56,94%)
Increased urinary frequency				
(score ≥ 2)	6 (25,00%)	11 (45,83%)	11 (45,83%)	28 (38,89%)
Nocturia				
(score ≥ 2)	10 (41,66%)	10 (41,66%)	15 (62,50%)	35 (48,61%)
Urgency				
(score ≥ 2)	12 (50,00%)	15 (62,50%)	18 (75,00%)	45 (62,50%)
Urge-incontinence				
(score ≥ 1)	17 (70,83%)	20 (83,33%)	22 (91,66%)	59 (81,94%)

Table 3 – Urinary symptoms scores assessed by the International Consultation on Incontinence Questionnaire - Short Form (ICIQ-UI SF) by group and treatment time

	Laser	Promestriene	Lubricant	<i>p</i>*
	(Mean ± SD)	(Mean ± SD)	(Mean ± SD)	
Frequency of urinary loss (Q3)				
Baseline	2,08 (1,61)	1,88 (1,51)	2,33 (1,52)	0,574
Week 14	1,36 (1,33)	1,95 (1,39)	2,71 (1,72)	0,035
<i>p</i> ** (baseline x week 14)	0,021	0,811	0,888	
Δ (baseline x week 14)	-0,86(1,64)	0,11(1,29)	-0,06(1,52)	0,206
Amount of urine lost (Q4)				
Baseline	2,08 (1,50)	2,33 (1,83)	2,17 (1,31)	0,923
Week 14	1,64 (1,18)	1,89 (1,05)	2,47 (1,50)	0,162
<i>p</i> ** (baseline x week 14)	0,148	0,188	1,000	
Δ (baseline x week 14)	-0,55(1,41)	-0,53(1,31)	0,00(1,22)	0,415
Interference of urinary loss in daily life (Q5)				
Baseline	4,75 (3,90)	4,71 (4,37)	5,33 (3,66)	0,746
Week 14	3,45 (3,02)	3,95 (3,57)	6,29 (3,42)	0,043
<i>p</i> ** (baseline x week 14)	0,020	0,266	0,661	
Δ (baseline x week 14)	-1,73(3,06)	-1,11(3,97)	-0,12(1,87)	0,374
Total Score				
Baseline	8,92 (6,55)	8,92 (7,11)	9,89 (5,90)	0,834
Week 14	6,45 (4,67)	7,79 (5,24)	11,47 (5,95)	0,028
<i>p</i> ** (baseline x week 14)	0,004	0,235	0,812	
Δ (baseline x week 14)	-3,14(5,12)	-1,53(5,82)	-0,18(2,60)	0,174
<i>p</i> ***	0,012			

*p** value for the Kruskal-Wallis test for comparison of values between the 3 groups

*p*** value for the Wilcoxon test for comparison of intragroup values (baseline x week14)

*p**** value for the ANOVA test for repeated measures intragroup total score (baseline x week14)

Table 4 – Urinary symptoms scores assessed by the International Consultation on Incontinence Questionnaire Overactive Bladder - (ICIQ-OAB) by group and treatment time

	Laser (Mean ± SD)	Promestriene (Mean ± SD)	Lubricant (Mean ± SD)	p*
Urinary Frequency (Q3a - How many times do you urinate per day?)				
Baseline	0,88 (1,03)	1,46 (1,50)	1,46 (1,38)	0,303
Week 14	1,00 (1,27)	1,11 (1,10)	1,12 (1,27)	0,837
<i>p</i> ** (baseline x week 14)	0,942	0,463	0,949	
Δ (baseline x week 14)	0,05 (1,25)	-0,21 (1,08)	-0,12 (1,45)	0,837
Nocturia (Q4a - During the night, how often do you get up to urinate?)				
Baseline	1,33 (0,87)	1,75 (1,11)	1,96 (1,08)	0,153
Week 14	1,00 (0,76)	1,42 (1,07)	2,18 (0,95)	0,002
<i>p</i> ** (baseline x week 14)	0,031	0,148	0,641	
Δ (baseline x week 14)	-0,41 (0,73)	-0,32 (0,75)	0,18 (1,01)	0,004
Urgency (Q5a - Do you need to hurry to get to the bathroom to urinate?)				
Baseline	1,54 (1,32)	1,92 (1,28)	2,13 (1,12)	0,267
Week 14	1,41 (1,10)	1,58 (0,90)	2,24 (1,20)	0,069
<i>p</i> ** (baseline x week 14)	0,440	0,283	1,000	
Δ (baseline x week 14)	-0,23 (1,19)	-0,37 (1,26)	-0,12 (1,32)	0,533
Urge-incontinence (Q6a - Do you lose urine when you get to the bathroom?)				
Baseline	1,46 (1,28)	1,63 (1,17)	2,13 (1,15)	0,126
Week 14	1,23 (0,92)	1,32 (1,00)	2,24 (1,09)	0,010
<i>p</i> ** (baseline x week 14)	0,180	0,435	0,750	
Δ (baseline x week 14)	-0,32 (0,89)	-0,26 (1,15)	-0,12 (0,70)	0,800
Total Score				
Baseline	5,21 (3,66)	6,75 (4,42)	7,67 (3,61)	0,086
Week 14	4,64 (2,59)	5,42 (3,02)	7,76 (3,36)	0,020
<i>p</i> ** (baseline x week 14)	0,204	0,091	0,633	
Δ (baseline x week 14)	-0,91 (2,89)	-1,16 (3,15)	-0,18 (3,03)	0,174
<i>p</i> ***				0,038

*p** value for the Kruskal-Wallis test for comparison of values between the 3 groups

*p*** value for the Wilcoxon test for comparison of intragroup values (baseline x week14)

*p**** value for the ANOVA test for repeated measures total score intergroup (laser over lubricant)

Artigo 2

ScholarOne Manuscripts™
Lúcia Costa-Pedra
Instructions & Fees
Help
Log Out

Climacteric
Taylor & Francis
ScholarOne

Home
Author
Editor

Author Dashboard / Submission Confirmation

Submission Confirmation

[Print](#)

Thank you for your submission

Submitted to	Climacteric
Manuscript ID	DCLI-2018-0299
Title	Effects of CO ₂ laser, promestrien and lubricant on the vaginal ecosystem of postmenopausal
Authors	Aguilar, Lúcia Poltano, Carlos Sanchez, João Pedro, Adriana Costa-Pedra, Lúcia
Date Submitted	30-Dec-2018

[Author Dashboard](#)

Effects of CO₂ laser, promestriene and lubricant on the vaginal ecosystem of postmenopausal women: a randomized clinical trial

Luiza Borges Aguiar¹; Carlos Alberto Politano¹; José Marcos Sanches Junior²; Adriana Orcesi Pedro¹; Lúcia Costa-Paiva¹

1. Department of Obstetrics and Gynecology, State University of Campinas, SP, Brazil

2. Department of Morphology and Genetics, Federal University of São Paulo, SP, Brazil

E-mails:

Luiza Borges Aguiar: ftluizaborges@gmail.com

Carlos Alberto Politano: cpolitano@clinicapolitano.com.br

José Marcos Sanches Junior: josemarcos.sanches@yahoo.com.br

Adriana Orcesi Pedro: aopedro@uol.com.br

Lúcia Helena Simões da Costa Paiva: paivaepaiva@uol.com.br

Corresponding author:

Lúcia Costa Paiva

Department of Gynecology and Obstetrics, State University of Campinas

Rua Alexander Fleming, 101

13083-881 Campinas-SP, Brazil

Phone: +55-19-3521-9306

E-mail: paivaepaiva@uol.com.br

Abstract

Objectives: To compare the effects of fractional CO₂ laser, promestriene, and lubricant treatments on the vaginal ecosystem of women with genitourinary syndrome of menopause. **Methods:** In this randomized clinical trial, 72 women aged 50 years and over were divided into laser CO₂, promestriene, and lubricant groups. The vaginal flora was assessed using vaginal secretions, which were collected before and 2 weeks after treatment. The Nugent score was used to analyze the slides. **Results:** The mean age of the participants was 57.28 (± 5.15) years; mean menopausal age, 48.14 (± 5.53) years; and mean time of menopause, 9.30 (± 6.35) years. After treatment, a significant increase in lactobacilli was observed in the laser CO₂ group ($p=0.001$) in comparison with the other groups ($p<0.001$). A significant improvement in pH was found in laser CO₂ ($p=0.001$) and promestriene groups ($p=0.043$); this improvement was superior to that observed in the lubricant group ($p<0.001$). The Nugent score presented improvement in the laser CO₂ group ($p<0.001$) in comparison with the other groups ($p<0.001$). **Conclusion:** Therapy with fractional CO₂ laser was more effective than with promestriene and lubricant to restore vaginal ecosystem and lactobacilli population, contributing to vaginal health of women with genitourinary syndrome of menopause.

Keywords: fractional CO₂ laser; genitourinary syndrome of menopause; vulvovaginal atrophy; vaginal flora; lactobacillus; estrogen

Introduction

The production of ovarian hormones is progressively reduced with the onset of the menopausal transition. The organs and tissues sensitive to these hormones undergo several histological, morphological, anatomical, and clinical changes^{1,2}. These changes are responsible for the characteristic signs and symptoms of genitourinary syndrome of menopause. Among the most common symptoms are vaginal dryness, itching, irritation, burning, dyspareunia, dysuria, urgency and repetitive urinary tract infections³⁻⁵.

The vaginal epithelium is stratified squamous, formed by three functional layers (superficial, intermediate, and deep) and lamina propria of highly vascularized connective tissue⁶. Estrogen and progesterone act directly on this epithelium and, consequently, on the production and release of glycogen. The glycogen is metabolized by lactobacilli in glucose and lactic acid, which maintain the acidic vaginal environment at normal vaginal pH between 3.8 and 4.5⁷⁻⁹. Additionally, estrogen is essential to maintain vaginal thickness, roughness, elasticity, integrity, and lubrication¹⁰.

After menopause, the population of lactobacilli and other bacteria is reduced and consequently lactic acid. With this, the vaginal pH increases, and the vaginal flora is altered and becomes more susceptible to pathogens⁴. Brotman et al. (2018) reported that a causal relationship may exist between vaginal flora and vaginal atrophy at menopause¹¹.

Topical hormonal treatment with estrogens is considered the therapy of choice for genitourinary syndrome. It seems to have a positive effect also on the vaginal microbiota and pH reduction¹². However, concern about the safety of long-term use of hormones and the inconvenience of vaginal use often impairs adherence to treatment and compromises their results^{10,13}. Additionally, symptoms tend to return after

discontinuing hormone treatment¹³. Vaginal lubricants and moisturizers can be used as non-hormonal treatment options, but have limited short-term effects¹⁰.

Recently, fractionated CO₂ laser has been considered a minimally invasive and easily applicable therapeutic alternative in the treatment of these symptoms¹⁴. Based on regenerative medicine, the thermal and microablative action of the laser induces a tissue remodeling response¹⁵. Although studies show efficacy in restoring vaginal trophism, the evidence is not based on randomized clinical trials¹⁶ and little is known about the effects on the vaginal ecosystem¹². The objective of this study was to evaluate and compare the effects of fractional CO₂, promestriene, and vaginal lubricant (control group) treatments on the vaginal ecosystem of women with genitourinary syndrome of menopause.

Methods

Sample size

No studies have compared the use of CO₂ laser with that of topical estrogen and vaginal lubricant when this protocol was elaborated. For this reason, the initial sample size was calculated based on a pilot study that evaluated vaginal health before and after treatment (VHI 13.1 ± 2.5 vs. 23.1 ± 1.9)¹⁷. Based on the other comparisons and analyses proposed in this protocol, a sample size of at least 20 cases per group was suggested. The sample size was increased by 20% to cover possible loss of follow-up. A total of 72 cases were randomized in the three intervention groups, that is, 24 cases in each group.

Study design and population

This randomized clinical trial was conducted between March 2017 and November 2018 at the Center for Comprehensive Attention to Women's Health

(CAISM) of the State University of Campinas (UNICAMP), São Paulo – Brazil. The protocol of this study was duly approved by the Ethics Committee of the Faculty of Medical Sciences of the State University of Campinas – Unicamp (CAAE: 56634016.0.0000.5404). The study was cataloged in the Brazilian Registry of Clinical Trials (Rebec) (UTN: U1111-1220-1620), and the guidelines contained in the *Consolidated Standards of Reporting Trials* were considered. Informed consent form was signed by all participants at the time of inclusion.

We included 72 women aged 50 years and older who had at least one year of menopause experience. These women had not undergone hormonal treatment for at least six months and had clinical complaint of vaginal dryness, associated or not with dyspareunia, vaginal burning, pruritus, and/ or urinary symptoms. Women who were at risk for estrogen-dependent diseases, such as breast and endometrial cancers, and who had HIV-positive serology and genital condylomatosis were excluded from the study. Women who underwent surgeries in the anterior, middle, and posterior compartments of the vagina and/or previous pelvic radiotherapy, as well as those who explicitly refused to participate, were also excluded.

Randomization and interventions

A computer-generated sequential list was elaborated using Microsoft Excel for Windows 2007 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA). According to the sequence, the included participants were randomized in a 1:1 ratio into three proposed intervention groups: 1 - intravaginal fractional CO₂ laser, 2 - promestriene topical, and 3 - vaginal lubricant.

In group 1, the participants were submitted to three intravaginal laser applications, every 30 days, applied by the responsible researcher. Fractionated CO₂

laser (SmartXide² V²LR System, Monalisa Touch; Deka, Florence, Italy) and 360° and 90°-30° cylindrical applicators were used. In group 2, 10 mg of vaginal promestriene was applied three times a week for 12 weeks. In group 3, topical lubricant gel was used applied with sexual activity for 12 weeks. The participants were contacted via telephone to verify the correct use of the medication and possible occurrence of complications and adverse effects. All study participants were instructed to contact the responsible investigators immediately in case of doubts, adverse effects, and complications. Fifteen days after the end of treatment, all the included women were submitted to a final evaluation including questionnaire completion and examinations.

Laser CO₂ procedure

A vaginal speculum was inserted with the participant in gynecological position. Secretions were cleaned, and the applicator was introduced. The 360° and 90°-30° cylindrical applicators were used. The parameters used were as follows: Dermal Optical Thermolysis power 40 W; Dwell time 1000 µs; Dermal Optical Thermolysis spacing 1000 µm; Smart Stack Function 2 for the 360° applicator and 3 for the 90°-30° applicator. At each firing of the laser, movements of rotation and withdrawal of the 360° applicator were made, guaranteeing the application throughout the vaginal canal. All the women in this group received guidelines on the proper care to be taken after each session. The treatment was performed as an outpatient procedure, with no need for lubricants or anesthetics.

Vaginal flora evaluation

A speculum was introduced to evaluate the vaginal flora. Vaginal secretion was collected from the lateral wall of the vagina by using a sterile swab. The smear was applied on two glass slides, one for bacterioscopy and another for cytological analysis, before and 15 days after the end of treatment. All slides were evaluated by the same

microbiologist, who was blinded in relation to all participants' information. Vaginal pH was evaluated using a colorimetric test (pH 0–14; Merck, Germany). The normal variation is between 3.8 and 4.5⁹.

The presence of cells and bacteria that make up the vaginal flora and its proportions were evaluated using the standard Gram staining. Their presence was classified as type 1 (predominance of at least 85% of lactobacilli), type 2 (balance between lactobacilli and coccoid flora), and type 3 (almost complete absence of lactobacilli with presence of coccoid flora)⁸. The presence of inflammatory process was classified as absent (absence of leukocytes), mild (1 to 4 leukocytes/field), and marked (>4 leukocytes/field). Lysis was classified as a function of the loose nuclei in the smear. The presence of cell lysis and inflammation and amount of lactobacilli were also evaluated.

The Nugent score was used to classify the bacteria as morphotypes of *Lactobacillus* (gram-positive long bacilli), morphotypes of *Gardnerella vaginalis* and *Bacteriodes* sp. (Gram-negative or Gram-variable coccobacilli), and morphotypes of *Mobiluncus* spp. (Gram-negative curved bacilli). Each morphotype is quantified and graded on a scale from 0 to 10, in which a value equal to or greater than 7 is considered positive for bacterial vaginosis¹⁸. The evaluation and analysis of all slides were performed by the same evaluator and without any identification (blinding).

Statistical analysis

Descriptive analyses were initially performed using frequencies, means, and standard deviation. Comparison of categorical variables between the intervention groups was performed using Chi-square or Fisher's exact test. Comparison of categorical variables between baseline and week 14 was carried out using the

McNemar test and Bowker's symmetry for related samples. Comparison of means was performed with the Kruskal-Wallis test because of the absence of normal distribution of the variables. To compare the scores between the intervention groups in multiple moments, ANOVA was used for repeated measurements, followed by Tukey and contrast profile tests, with variables transformed into stations/ranks due to the absence of normal distribution. Comparison of numerical variables between baseline and post-treatment was performed using the Wilcoxon test for related samples because of the absence of normal distribution of variables. For statistical analysis, the intention-to-treat method was conducted. The significance level adopted for the statistical tests was 5%. The SAS System for Windows, version 9.2 was used for the analysis.

Results

Seventy-two women included in this study were randomized into three intervention groups: Laser CO₂ group, promestriene group, and lubricant group (Control). The mean age of the women was 57.28 (± 5.15) years; mean menopausal age; 48.14 (± 5.53) years; and mean total menopausal time of the sample, 9.30 (± 6.35) years. No differences were found among the groups in terms of age, time of menopause, and age of menopause. Most of the women declared themselves as white (77.78%), non-smoker (69.44%), and married (73.61%), and had two or more children (76.39%). However, a higher percentage of women who declared themselves to be nonwhite in the promestriene and lubricant groups ($p=0.043$). Table 1 shows the socio-demographic and clinical data of the participants.

In the comparison analysis among the treatment groups, a statistically significant difference in the presence of lysis ($p=0.025$) in the posttreatment, with a

more 'small amount' frequency in the laser CO₂ group and 'absent' in the promestriene and lubricant groups.

In relation to the presence of lactobacilli and the type of flora, a significant increase in the laser CO₂ group, both in the intragroup analysis (baseline × week 14) ($p=0.001$, $p=0.010$) and in the comparison with the promestriene and lubricant groups ($p<0.001$; $p=0.019$). At baseline, most of the women in the three groups had no lactobacilli. After treatment, 72.73% of the group participants in the laser CO₂ group had an abundant presence of lactobacilli. Although the promestriene group showed an increase in the lactobacilli population, the improvement was not statistically significant. With regard to the percentage of women with vaginal inflammation, no significant differences were found among the different groups (Table 2).

The vaginal pH had a significant progressive reduction between the intragroup (baseline × week 14) evaluations in the laser CO₂ ($p=0.001$) and promestriene ($p=0.043$) groups, but not in the vaginal lubricant group. After laser application, there was a reduction of pH in 86.36% of the women in the laser CO₂ group. In the comparison among the groups, treatments with fractionated laser CO₂ and promestriene were superior to that with vaginal lubricant in reducing the pH ($p<0.001$) (Table 2).

There was a significant reduction in the Nugent score in the intragroup analysis (baseline × week 14) in the laser CO₂ group ($p<0.001$; $p^{\text{anova}}=0.002$). The comparison among the treatment groups showed a significant difference of laser CO₂ and promestriene in relation to the lubricant ($p<0.001$) (Figure 2). No changes were observed in the population of *Candida* spp. and *Mobiluncus* spp. in any of the proposed treatments.

All the treatment proposals used in this study were well accepted and tolerated by the participating women. One participant in the lubricant group discontinued treatment because of an allergy to the product. No other adverse effects or complications were reported or observed in any of the treatments used.

Discussion

Vaginal microflora plays a key role in physiology and genital health. Because it is susceptible to hormonal variations, the flora undergoes direct changes with the progressive reduction of estrogens, a characteristic of the climacteric process^{4,19}. This study showed that CO₂ laser improved some parameters of the vaginal ecosystem; the improvement was superior to promestriene and vaginal lubricant.

Of the patients submitted to fractional CO₂ laser in this study, 86.36% presented vaginal pH less than or equal to 4.6 and 72.73% had lactobacilli after treatment. The Nugent score of this group also presented a significant reduction, reaching values of normality (0-3) in 81.81% of the women after 3 laser sessions ($p < 0.001$).

In the comparative analysis among the groups of the present study, treatment with fractionated CO₂ laser showed an increase in the amount of lactobacilli of 20.84% before treatment to 100% after the end of the applications ($p < 0.001$), improvement of the type of flora ($p = 0.019$), and pH reduction ($p < 0.001$). These results are in agreement with those found in the first study that evaluated the effects of fractionated CO₂ laser on the vaginal ecosystem of menopausal women. In this study, Athanasiou et al. evaluated 53 postmenopausal women undergoing laser therapy. They observed a significant improvement in the lactobacillus population from 30% to 79% at pH and the normal (< 3) Nugent score from 47% at baseline to 87% after treatment¹².

A recent systematic review and meta-analysis has evaluated the efficacy of fractional CO₂ and Erbium:YAG intravaginal laser therapies in women with symptoms of genitourinary syndrome of menopause. Their results pointed to the positive effect of laser use on the vaginal flora through a significant increase in the amount of lactobacilli²⁰. These data attributed to the beneficial effect of CO₂ laser in restoring the vaginal flora of postmenopausal women.

In the present study, we did not observe any changes in the population of *Candida* spp. or *Mobiluncus* spp. or increased inflammation in the vaginal smear in any treatment. Studies showed that changes in lactobacilli with a consequent increase in postmenopausal vaginal pH can lead to vaginal inflammation (atrophic vaginitis) and may correlate with the presence of *Gardnerella vaginalis*, *Trichomonas vaginalis*, enterococcus, Group B streptococci, and *Escherichia coli* and with pre-existing colonization¹². In the study by Athanasiou et al.¹², almost no changes in the vagina microorganisms were observed, with significant reduction only of *E. coli* and *Mobiluncus* spp. The microorganisms present were 2% *Gardnerella vaginalis*, 8% gram-positive, 4% gram-negative, and 2% *Candida* spp at the end of the 3 sessions of CO₂ laser. No patient had any signs of infection or had to receive treatment, indicating that CO₂ laser does not predispose to the occurrence of vaginal infections.

In the present study, favorable changes in the vaginal ecosystem with CO₂ laser were superior to those observed with topical promestriene. Intravaginal hormonal treatment is considered a gold standard in the treatment of women with genitourinary syndrome, and is superior to systemic hormonal therapy in these cases^{4,12,14,15}.

In this study, treatment with promestriene for 12 weeks led to a significant reduction in pH (p=0.043), but no significant changes in the amount of lactobacilli, type of flora, and the Nugent score. As observed in the present study, others also reported

that topical hormonal therapy is associated with reduced pH, which may contribute to maintaining a healthy vaginal flora. The mean pH after 12 weeks of topical estrogen ranges from 4.6 to 4.9, as a function of the estrogen and dosage used¹².

However, the success of local hormonal treatment depends on the engagement and adherence of the patient to the treatment²¹. Concern about the safety of therapy, possible drawbacks in maintaining medication use, unsatisfactory symptom relief, and discomfort with vaginal application are important factors in the long-term discontinuation of topical treatment^{10,17}.

Although laser therapy is widely used in antiaging dermatology, its use in gynecology is still limited. Since the first publication by Salvatore et al.¹⁷, new studies with laser have accumulated in literature. Most of the studies showed effective results in the restoration of vaginal trophism and tissue elasticity by stimulating the production of collagen. Laser therapy may be a new therapeutic modality for those who have contraindications or have not received a response with hormonal treatment. However, almost all studies with vaginal laser come from open prospective studies, comparing vaginal effects before and after laser application, without comparison group, with a small sample size and short-term follow-up^{20,22}.

Although the evidence currently available in literature shows promising results in laser treatments, the methodological quality of such evidence can be considered low because of small sample sizes and short follow-up. Currently, knowledge about the effects of laser at longer follow-up has increased, and studies with up to 24 months have confirmed that the benefits in vaginal trophism can be maintained until this period²³. In addition, few studies evaluated the possible effects of fractionated CO₂ laser on the vaginal microflora of postmenopausal women. By promoting improved balance, lactobacilli, and vaginal pH, laser restores vaginal trophism and promotes the

maintenance of vaginal flora compatible with that found in healthy premenopausal vaginal mucosa.

The main limitations of this study are the small number of participants in each group and the short follow-up period. Some effects of the treatments may not have been established because the time may have been insufficient to verify changes, particularly with topical therapy. A strong point of the study is that we compared fractional CO₂ laser with two other groups, one control, to avoid the placebo effect and the other topical estrogen group. Because it is a randomized clinical trial comparing a new technology with conventional standard treatment, the results are more consistent and may contribute to improve knowledge through level A evidence of the efficacy of this new therapeutic modality for a high postmenopausal prevalence.

To our knowledge, this study is the first randomized clinical trial to evaluate the effects of fractionated CO₂ laser compared with topical and topical hormonal therapy in the vaginal ecosystem of women with genitourinary syndrome of menopause.

Conclusions

Fractionated CO₂ laser therapy is effective in restoring the vaginal ecosystem and lactobacilli population, contributing to the vaginal health of women with genitourinary syndrome of menopause. The potential implications that laser effects may have on the role of protection against vaginal infections have yet to be elucidated. Different aspects of the treatment with vaginal laser still need to be clarified. More controlled studies with robust methodologies and larger sample sizes and longer follow-up periods are warranted to investigate the efficacy and safety of this long-term treatment modality and the maintenance of these effects on the vaginal flora.

Conflict of interest: The authors do not have a conflict of interest to declare.

References

1. Mac Bride MB, Rhodes DJ, Shuster LT. Vulvovaginal atrophy. *Mayo Clin Proc.* 2010;85(1):87-94.
2. Portman DJ, Gass ML, Panel VATCC. Genitourinary syndrome of menopause: new terminology for vulvovaginal atrophy from the International Society for the Study of Women's Sexual Health and the North American Menopause Society. *J Sex Med.* 2014;11(12):2865-2872.
3. Frank SM, Ziegler C, Kokot-Kierepa M, et al. Vaginal health: insights, views & attitudes (VIVA) survey - Canadian cohort. *Menopause Int.* 2013;19(1):20-27.
4. Management of symptomatic vulvovaginal atrophy: 2013 position statement of The North American Menopause Society. *Menopause.* 2013;20(9):888-902; quiz 3-4.
5. Portman DJ, Gass ML, Panel VATCC. Genitourinary syndrome of menopause: new terminology for vulvovaginal atrophy from the International Society for the Study of Women's Sexual Health and the North American Menopause Society. *Menopause.* 2014;21(10):1063-1068.
6. Zerbinati N, Serati M, Origoni M, et al. Microscopic and ultrastructural modifications of postmenopausal atrophic vaginal mucosa after fractional carbon dioxide laser treatment. *Lasers Med Sci.* 2015;30(1):429-436.
7. Nilsson K, Risberg B, Heimer G. The vaginal epithelium in the postmenopause--cytology, histology and pH as methods of assessment. *Maturitas.* 1995;21(1):51-56.
8. Ma B, Forney LJ, Ravel J. Vaginal microbiome: rethinking health and disease. *Annu Rev Microbiol.* 2012;66:371-389.
9. Mendling W. Vaginal microbiota. *Adv Exp Med Biol.* 2016;902:83-93.

10. Kingsberg SA, Krychman ML. Resistance and barriers to local estrogen therapy in women with atrophic vaginitis. *J Sex Med.* 2013;10(6):1567-1574.
11. Brotman RM, Shardell MD, Gajer P, et al. Association between the vaginal microbiota, menopause status, and signs of vulvovaginal atrophy. *Menopause.* 2018;25(11):1321-1330.
12. Athanasiou S, Pitsouni E, Antonopoulou S, et al. The effect of microablative fractional CO₂ laser on vaginal flora of postmenopausal women. *Climacteric.* 2016;19(5):512-518.
13. Santoro N, Komi J. Prevalence and impact of vaginal symptoms among postmenopausal women. *J Sex Med.* 2009;6(8):2133-2142.
14. Hutchinson-Colas J, Segal S. Genitourinary syndrome of menopause and the use of laser therapy. *Maturitas.* 2015;82(4):342-345.
15. Salvatore S, Leone Roberti Maggiore U, Athanasiou S, et al. Histological study on the effects of microablative fractional CO₂ laser on atrophic vaginal tissue: an ex vivo study. *Menopause.* 2015;22(8):845-849.
16. Cruz VL, Steiner ML, Pompei LM, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial for evaluating the efficacy of fractional CO₂ laser compared with topical estriol in the treatment of vaginal atrophy in postmenopausal women. *Menopause.* 2018;25(1):21-28.
17. Salvatore S, Nappi RE, Zerbinati N, et al. A 12-week treatment with fractional CO₂ laser for vulvovaginal atrophy: a pilot study. *Climacteric.* 2014;17(4):363-369.
18. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J Clin Microbiol.* 1991;29(2):297-301.
19. Martins NV, Ribalta J. *Patologia do Trato Genital Inferior.* 1 ed 2005.

20. Pitsouni E, Grigoriadis T, Falagas ME, et al. Laser therapy for the genitourinary syndrome of menopause. A systematic review and meta-analysis. *Maturitas*. 2017;103:78-88.
21. Shulman LP, Portman DJ, Lee WC, et al. A retrospective managed care claims data analysis of medication adherence to vaginal estrogen therapy: implications for clinical practice. *J Womens Health (Larchmt)*. 2008;17(4):569-578.
22. Arunkalaivanan A, Kaur H, Onuma O. Laser therapy as a treatment modality for genitourinary syndrome of menopause: a critical appraisal of evidence. *Int Urogynecol J*. 2017;28(5):681-685.
23. Gambacciani M, Levancini M, Russo E, et al. Long-term effects of vaginal erbium laser in the treatment of genitourinary syndrome of menopause. *Climacteric*. 2018;21(2):148-152.

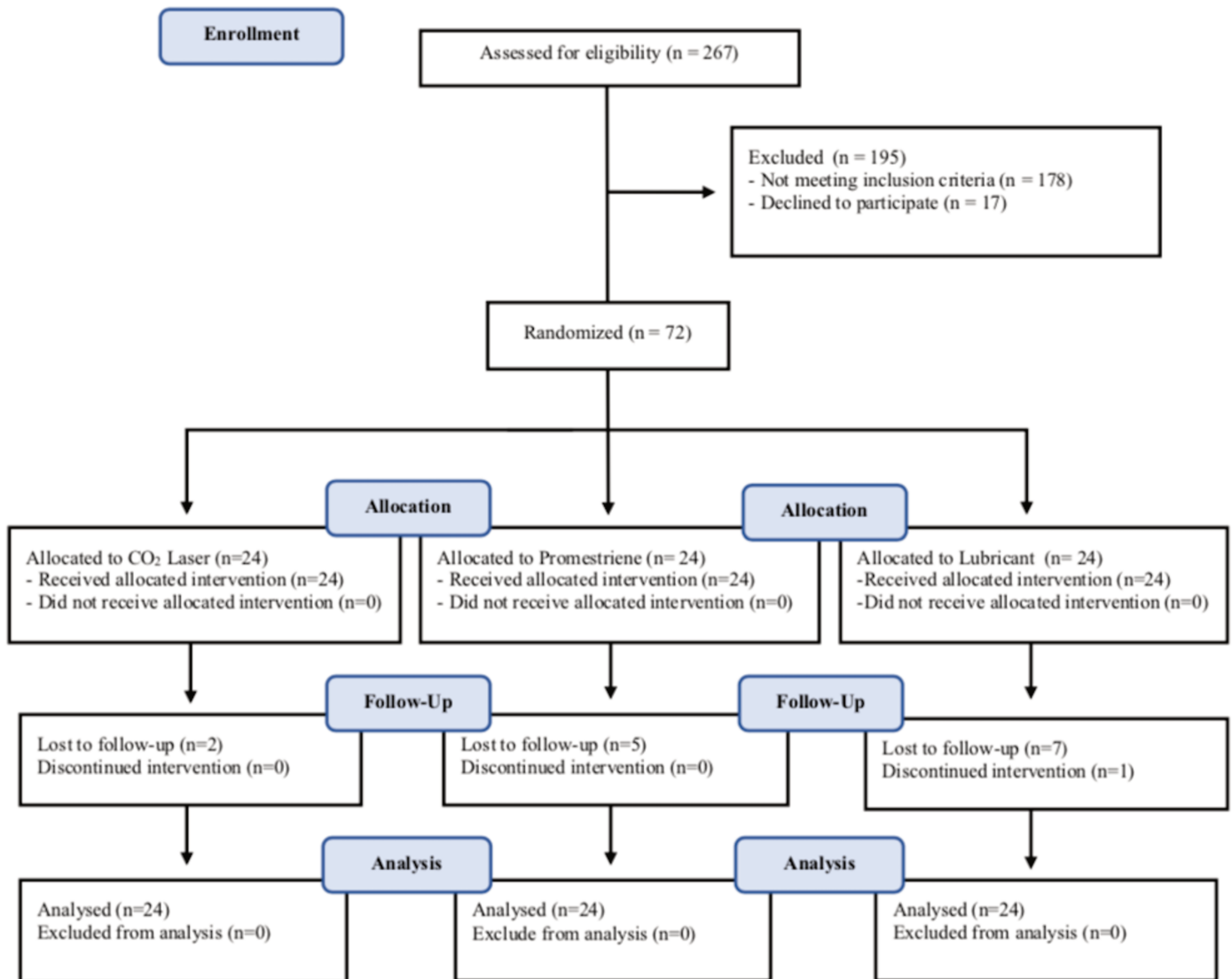


Figure 1 – Consort Flow Diagram

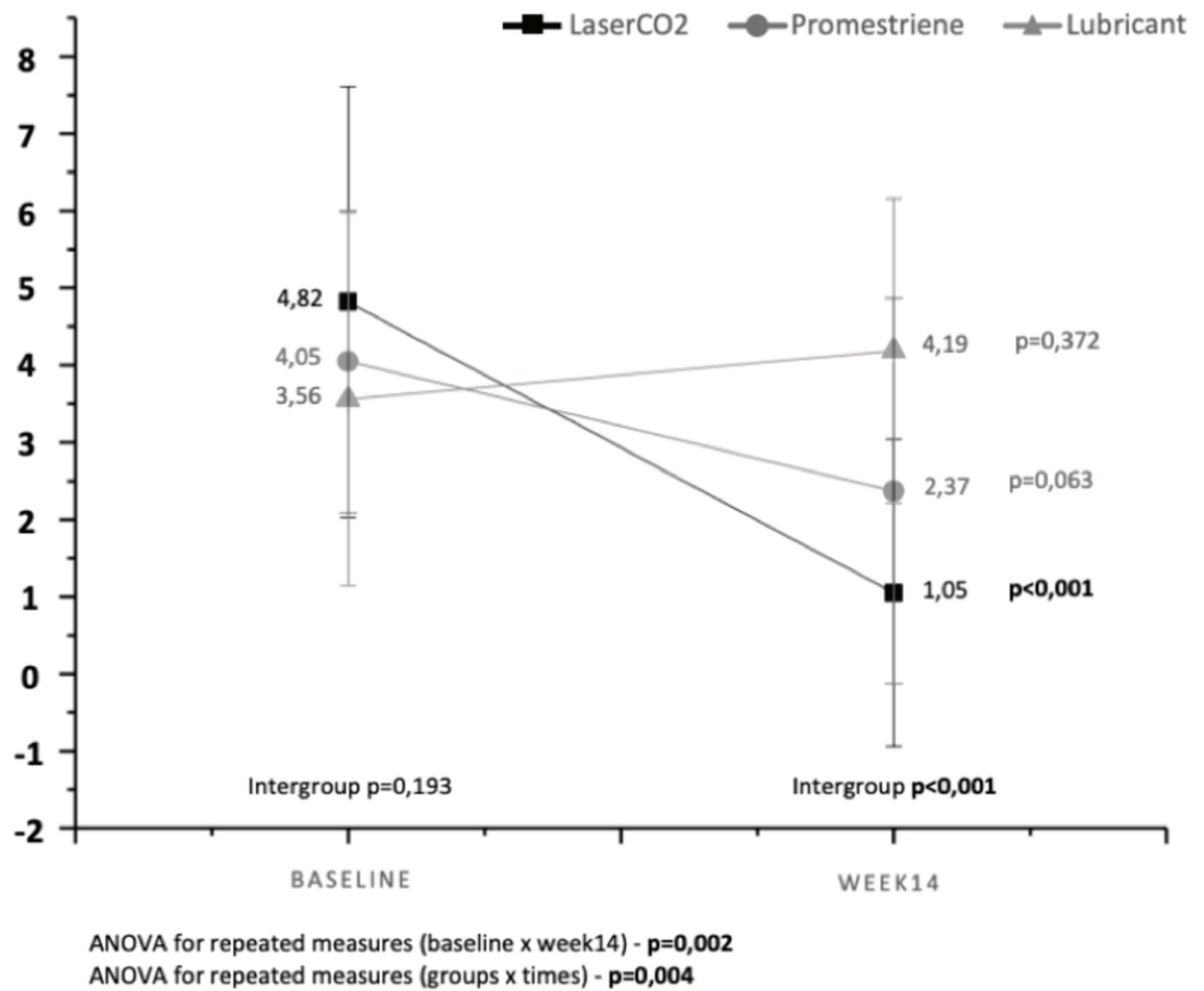


Figure 2 - Nugent Score according to group and time before and after 14 weeks

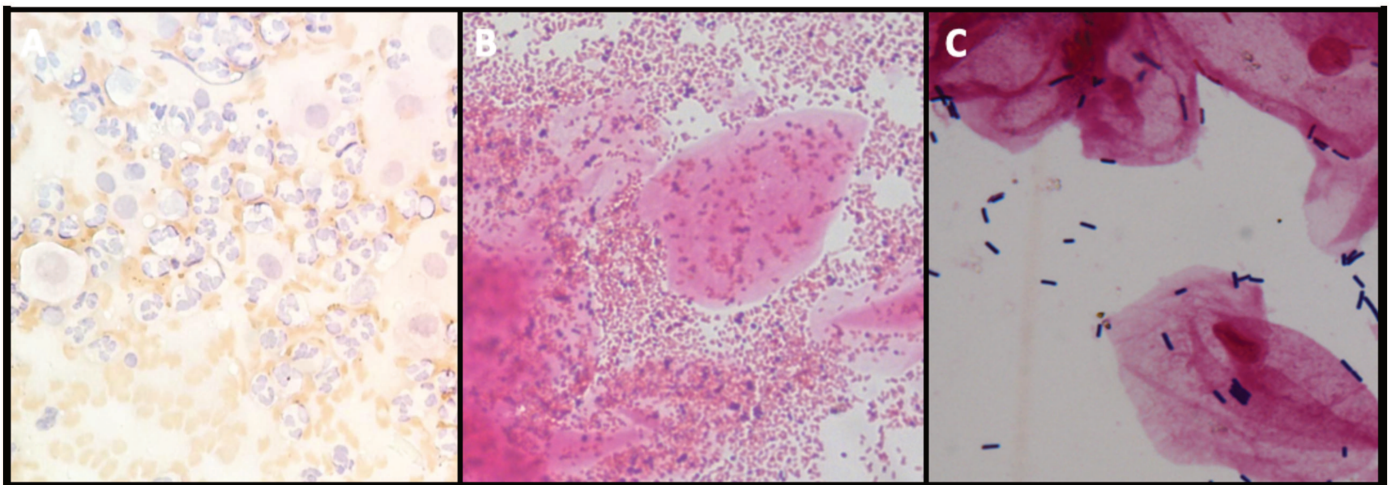


Figure 3. A: Cytological and microbiological analysis. A: Atrophic vaginal epithelium which is characterized by the predominance of parabasal cells and few lactobacilli. B) Abnormal flora (type 3) characterized by the Nugent score >7 . C: Normal flora (type I) with Nugent score 0-3 which the predominance of lactobacillus compound this vaginal flora. Increase of 1000x immersion in the optical microscope.

Table 1 – Clinical and sociodemographic characteristics by group (n = 72)

Characteristics	Laser (n = 24)		Promestriene (n = 24)		Lubricant (n = 24)		p
Age (57,28 ± 5,15)	57,83 ± 5,01		57,21 ± 5,26		56,79 ± 5,33		0,784
Time of menopause (9,30 ± 6,35)	9,35 ± 4,61		9,96 ± 7,35		8,58 ± 6,89		0,446
Age of menopause (48,14 ± 5,53)	48,91 ± 4,09		47,21 ± 6,62		48,33 ± 5,62		0,747
Race (%)							
Caucasian	23	95,83	16	66,67	17	70,83	0,043
Non-caucasian	1	4,17	8	33,33	7	29,17	
Smoking (%)							
Smoker / ex-smoker	5	20,83	8	33,33	9	37,50	0,792
Non-smoker	19	79,17	16	66,67	15	62,50	
Parity (%)							
0	1	4,16	3	12,50	2	8,33	0,865
1	4	16,67	4	16,67	3	12,50	
≥ 2	19	79,17	17	70,83	19	79,17	
Marital status (%)							
Single	0	0	3	12,50	2	8,33	0,148
Married	16	66,67	18	75,00	19	79,17	
Divorced	8	33,33	3	12,50	3	12,50	
Profission (%)							
Paid employment	15	62,50	16	66,67	17	70,83	0,759
Work at Home	4	16,67	6	25,00	4	16,67	
Retired	5	20,83	2	8,33	3	12,50	

Table 2 – Components of the vaginal ecosystem according to treatment group and time

	Laser		Promestriene		Lubricant		
	Baseline (n=24)	Week14 (n=22)	Baseline (n=24)	Week14(n=19)	Baseline (n=24)	Week14 (n=16)	p*
Lise							
Absent	22(91,67%)	13(59,09%)	21(87,50%)	15(78,95%)	19(79,17%)	16(100%)	
Few	2(8,33%)	7(31,82%)	3(12,50%)	2(10,53%)	3(12,50%)	0(0%)	
Intense	0(0%)	2(9,09%)	0(0%)	2(10,53%)	2(8,33%)	0(0%)	0,576*
p** (baseline x week14)		0,09		0,572		0,32	0,025*
Lactobacillus							
Absent/Scarce	19(79,17%)	0(0%)	20(83,33%)	8(42,11%)	21(87,50%)	13(81,25%)	
Normal	4(16,67%)	6(27,27%)	3(12,50%)	3(18,75%)	2(8,33%)	3(18,75%)	
Abundant	1(4,17%)	16(72,73%)	1(4,17%)	8(42,11%)	1(4,17%)	0(0%)	0,900*
p** (baseline x week14)		0,001		0,375		0,753	<0,001*
Candida spp							
Absent	24(100%)	21(95,45%)	24(100%)	19(100%)	21(87,50%)	16(94,12%)	
Present	0	1(4,55%)	0	0	3(12,50%)	1(5,88%)	0,012
p** (baseline x week14)		0,317		1,000		0,317	0,747
Mobiluncus spp							
Absent	23(95,83%)	22(100%)	23(95,83%)	19(100%)	24(100%)	16(94,12%)	
Present	1(4,17%)	0	1(4,17%)	0	0	1(5,88%)	1,000
p** (baseline x week14)		0,317		1,000		0,317	0,293
pH							
≤ 4,6	0 (0%)	19(86,36%)	0(0%)	8(42,11%)	0 (0%)	0(0%)	
≥ 4,7	24(100%)	3(13,64%)	24(100%)	11(57,89%)	24(100%)	16(100%)	0,732*
p** (baseline x week14)		0,001		0,043		0,262	<0,001*
Flora type							
1	6(25,00%)	16(72,73%)	6(25,00%)	11(57,89%)	6(25,00%)	4(25,00%)	
2	2(8,33%)	2(9,09%)	4(16,67%)	2(10,53%)	5(20,83%)	1(6,25%)	
3	16(66,67%)	4(18,18%)	14(58,33%)	6(31,58%)	13(54,17%)	11(68,75%)	0,848*
p** (baseline x week14)		0,010		0,216		0,986	0,019*
Inflammation							
Absent	13(54,17%)	14(63,64%)	15(62,50%)	13(68,42%)	12(50,00%)	12(75,00%)	
Mild	7(29,17%)	6(27,27%)	9(37,50%)	6(31,58%)	11(45,83%)	4(25,00%)	
Accentuated	4(16,67%)	2(9,09%)	0(0%)	0(0%)	1(4,17%)	0(0%)	0,218*
p** (baseline x week14)		0,801		1,000		0,644	0,715*

* *p* value for the Fisher Exact test for comparison of values between the 3 groups** *p* value for the Symmetry Test for comparison of intragroup values (baseline x week14)

5. DISCUSSÃO GERAL

Este estudo foi realizado para avaliar os efeitos de uma nova modalidade de terapia com aplicação de laser de CO₂ fracionado intravaginal nos sintomas urinários e no ecossistema vaginal de mulheres com Síndrome Geniturinária da Menopausa. No que concerne aos sintomas urinários, os efeitos do laser vaginal, após três sessões, foram mais evidentes sobre a perda urinária aos esforços, a interferência das perdas urinárias na vida diária e a noctúria.

A tecnologia a laser tem sido utilizada para tratamento dos sintomas urinários, atrofia vaginal e prolapso dos órgãos pélvicos. As vantagens dessa técnica é ser minimamente invasiva, com aplicações rápidas, praticamente indolor e um possível efeito prolongado. O princípio deste tratamento se baseia no efeito termoablativo do laser CO₂ fracionado, favorecendo a regeneração da mucosa, com estímulo da neocolagenogênese e revascularização tecidual^{4,34,36,40}.

Os resultados mostraram um efeito positivo significativo do laser no escore total de avaliação da incontinência urinária de esforço ($p=0,004$), o que não foi observado nos demais grupos de tratamento. Em relação aos sintomas de bexiga hiperativa, a análise de comparação entre os grupos o laser se mostrou superior ao lubrificante ($p=0,038$). Esses dados estão em concordância com as evidências descritas na literatura.

Atualmente, é possível acessar um número considerável de estudos sobre o uso das terapias a laser para essa indicação. Entretanto, muitos estudos que respaldam essas evidências possuem casuísticas pequenas, pouco tempo de seguimento e, muitas vezes, sem grupos de comparação com outras opções de tratamento.

Uma revisão sistemática realizada por Pergialiotis *et al.* (2017)³⁸, incluiu treze estudos com 818 mulheres submetidas à diferentes tipos de laserterapia (CO₂ fracionado e Erb:YAG) para tratamento da incontinência urinária de esforço. Os autores não identificaram nenhum ensaio clínico randomizado e enfatizam a heterogeneidade dos estudos disponíveis, inviabilizando, por exemplo, a realização de uma metanálise. Após as análises, os resultados dessa revisão sugerem que a terapia com laser intravaginal para sintomas de incontinência urinária são promissores.

Conte *et al.* (2017) incluiu sete estudos prospectivos não comparativos, também com uso de erbium YAG ou de CO₂ fracionado para incontinência urinária de esforço. A taxa de melhora encontrada variou de 62% a 78%, sem relatos de efeitos adversos importantes. Ambos os estudos reafirmam sobre a necessidade de mais estudos metodologicamente mais rigorosos, com maior tempo de seguimento e que comparem essa modalidade terapêutica com as demais já disponíveis³⁷.

O manual prático da Sociedade de Obstetrícia e Ginecologia do Canadá (SOGC) (2018) incluiu três estudos com Er:YAG, que utilizaram o como instrumento de avaliação o *International Consultation on Incontinence Questionnaire - Short Form* (ICIQ-UI SF), com seguimento de 6 a 12 meses. Um desses estudos, observou uma melhora da severidade dos sintomas em 77% dos casos e 62% dessas mulheres continuavam assintomáticas ao final de um ano. Uma redução mais importante nos sintomas foi observada naquelas mulheres com quadro de incontinência mais severo⁴⁵.

Apesar dos resultados positivos, as evidências são fracas e insuficientes e não existe consenso sobre a utilização do tratamento a laser para incontinência urinária de esforço. Todos esses estudos reafirmam sobre a necessidade de estudos metodologicamente mais rigorosos, com maior tempo de seguimento e que comparem essa modalidade terapêutica com as demais já disponíveis.

Outro parâmetro avaliado nesse estudo foram os possíveis efeitos do laser sobre o microssistema vaginal. A vagina tem um ecossistema dinâmico de microorganismos que, em condições normais, se mantêm em equilíbrio. Quando esse microbioma é perturbado, a vagina pode ficar mais suscetível a infecções³⁵.

Observou-se neste estudo uma melhora significativa da quantidade de *Lactobacillus* e tipo de flora no grupo tratado com laser, que se mostrou também superior aos demais tratamentos. A diminuição significativa do pH vaginal e do escore de *Nugent* no grupo laser foi semelhante ao tratamento com estrogênio. É difícil comparar esses dados com outros estudos da literatura uma vez que, a maioria dos estudos com laser avaliam a saúde vaginal através do Índice de Saúde Vaginal, que considera outros parâmetros como elasticidade, lubrificação, pH, volume de fluido e integridade epitelial. Uma melhora desses parâmetros de saúde vaginal pode ser interpretada como uma reversão do trofismo da mucosa tecidual^{4,34,36,40}.

Foi identificado apenas um estudo prospectivo, sem grupos de comparação, que avaliou os efeitos do laser de CO₂ fracionado na flora vaginal de mulheres com Síndrome Geniturinária da Menopausa. Após a aplicação do laser, a quantidade de *Lactobacillus* e a flora vaginal foi reestabelecida em cerca de 80% das mulheres, sem sinais ou sintomas de vaginose bacteriana⁴⁶. Esses dados sugerem que a terapia com laser, além de reverter o trofismo vaginal, não aumenta o risco de infecções, uma vez que não traz prejuízo para a flora vaginal de mulheres na pós-menopausa.

A terapia com laser de CO₂ fracionado está sendo rapidamente disseminado na ginecologia. O uso terapêutico dessa tecnologia para tratar sintomas urinários e vulvovaginais tem sido alvo de duras críticas devido à possibilidade, mesmo sem respaldo científico, da indicação indiscriminada desse tratamento em detrimento de outras opções já consolidadas na literatura. Além disso, o laser também tem sido bastante utilizado para finalidades estéticas com a proposta de rejuvenescimento vulvovaginal.

Preocupada com essa disseminação, o *Food and Drug Administration* divulgou um alerta para profissionais de saúde e mulheres a respeito da forma equivocada com que os dispositivos baseados em energia têm sido utilizados. A agência deixa claro que não aprova o uso desses dispositivos para tratamento de sintomas urinários, atrofia vulvovaginal e disfunção sexual, bem como sua comercialização. A segurança desses dispositivos para essas finalidades ainda não está completamente elucidada e seu uso pode resultar em eventos adversos graves, como queimaduras vaginais, cicatrizes, dor durante a relação sexual e dores crônicas. O alerta reforça ainda sobre os perigos de usar equipamentos para fins exclusivamente estéticos de rejuvenescimento vaginal⁴⁷.

Em resposta quase imediata ao alerta da *Food and Drug Administration*, a Escola de Medicina da Universidade de Harvard realizou um pronunciamento no qual afirma concordar com a real necessidade de mais estudos para respaldo científico, indicações bem definidas, médicos qualificados e éticos, a fim de garantir a segurança no uso dos dispositivos. Concorda ainda que, a terapia com laser vaginal com objetivo de tratar sintomas da Síndrome Geniturinária da Menopausa realmente não corresponde ao que seria um rejuvenescimento vaginal⁴⁸.

Em contrapartida, acredita-se que a postura adotada pela *Food and Drug Administration*, considerada extremissimamente cautelosa, possa comprometer o

desenvolvimento e disponibilidade de terapias novas e inovadoras que beneficiariam muitas mulheres. Acredita-se que a terapia com laser de CO₂ intravaginal é, sim, uma potencial alternativa para tratar aquelas mulheres que não se beneficiaram ou possuem contraindicações para as opções terapêuticas conhecidas⁴⁸.

No Brasil, a Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia (Febrasgo) também se posicionou através dos seguintes apontamentos: o médico ginecologista deve aplicar a técnica com devida autorização e treinamento. A literatura científica deve ser a base para a padronização da técnica e os equipamentos precisam ser submetidos a uma seleção cuidadosa, a fim de evitar o uso de dispositivos sem as devidas aprovações. O diagnóstico de atrofia vaginal deve ser confirmado naquelas mulheres com indicação para a terapia. Essa tecnologia não é recomendada para uso com finalidades estéticas e termos que induzam a essa interpretação devem ser descartados⁴⁹.

A realização desse estudo buscou contribuir para a construção de conhecimento e de evidências científicas consistentes sobre o uso do laser de CO₂ fracionado na Síndrome Geniturinária da Menopausa. O laser parece ser uma tecnologia com potencial aplicabilidade na ginecologia, eficácia e segurança para o tratamento desses sintomas e melhora na qualidade de vida das mulheres na pós-menopausa. Endossamos a necessidade de estudos bem desenhados, com metodologias robustas e seguimentos de longo prazo para que o uso do laser possa ser seguramente incluído como arsenal da rotina terapêutica para essas mulheres.

6. CONCLUSÃO

A terapia com LaserCO₂ fracionado mostrou melhora significativa dos sintomas de perda urinária involuntária aos esforços e sua interferência na vida diária e noctúria.

O tratamento com laser de CO₂ fracionado reestabeleceu o ecossistema vaginal e a população de *Lactobacillus* das mulheres com síndrome geniturinária da menopausa tratadas neste estudo.

O tratamento com LaserCO₂ fracionado não provocou complicações e/ou efeitos adversos, não sendo observados pelos pesquisadores e nem relatados pelas participantes durante e após o tratamento.

REFERÊNCIAS

1. (IBGE). IBdGeE. tabela completa de mortalidade para o Brasil – 2016: Breve análise da evolução da mortalidade no Brasil. Rio de Janeiro 2017. p.
<https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/sociais/populacao/9126-tabuas-completas-de-mortalidade.html?=&t=resultados>.
2. Gerência de Estudos e Análises da Dinâmica Demográfica: Projeção da população. [Internet]. 2018.
3. Management of symptomatic vulvovaginal atrophy: 2013 position statement of The North American Menopause Society. *Menopause*. 2013;20(9):888-902; quiz 3-4.
4. Salvatore S, Athanasiou S, Candiani M. The use of pulsed CO2 lasers for the treatment of vulvovaginal atrophy. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2015;27(6):504-8.
5. Portman DJ, Gass ML, Panel VATCC. Genitourinary syndrome of menopause: new terminology for vulvovaginal atrophy from the International Society for the Study of Women's Sexual Health and the North American Menopause Society. *J Sex Med*. 2014;11(12):2865-72.
6. Mehta A, Bachmann G. Vulvovaginal complaints. *Clin Obstet Gynecol*. 2008;51(3):549-55.
7. Kingsberg SA, Krychman ML. Resistance and barriers to local estrogen therapy in women with atrophic vaginitis. *J Sex Med*. 2013;10(6):1567-74.
8. Salvatore S, Leone Roberti Maggiore U, Athanasiou S, Origoni M, Candiani M, Calligaro A, et al. Histological study on the effects of microablative fractional CO2 laser on atrophic vaginal tissue: an ex vivo study. *Menopause*. 2015;22(8):845-9.
9. DeLancey JO. Anatomy and physiology of urinary continence. *Clin Obstet Gynecol*. 1990;33(2):298-307.
10. Trutnovsky G, Rojas RG, Mann KP, Dietz HP. Urinary incontinence: the role of menopause. *Menopause*. 2014;21(4):399-402.
11. Petros PE, Woodman PJ. The Integral Theory of continence. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct*. 2008;19(1):35-40.
12. Portman DJ, Gass ML, Panel VATCC. Genitourinary syndrome of menopause: new terminology for vulvovaginal atrophy from the International Society for the Study of Women's Sexual Health and the North American Menopause Society. *Maturitas*. 2014;79(3):349-54.
13. Portman DJ, Gass ML, Panel VATCC. Genitourinary syndrome of menopause: new terminology for vulvovaginal atrophy from the International Society for the Study of Women's Sexual Health and the North American Menopause Society. *Menopause*. 2014;21(10):1063-8.
14. Frank SM, Ziegler C, Kokot-Kierepa M, Maamari R, Nappi RE. Vaginal Health: Insights, Views & Attitudes (VIVA) survey - Canadian cohort. *Menopause Int*. 2013;19(1):20-7.
15. Santoro N, Komi J. Prevalence and impact of vaginal symptoms among postmenopausal women. *J Sex Med*. 2009;6(8):2133-42.
16. Zerbinati N, Serati M, Origoni M, Candiani M, Iannitti T, Salvatore S, et al. Microscopic and ultrastructural modifications of postmenopausal atrophic vaginal mucosa after fractional carbon dioxide laser treatment. *Lasers Med Sci*. 2015;30(1):429-36.
17. Nilsson K, Risberg B, Heimer G. The vaginal epithelium in the postmenopause--cytology, histology and pH as methods of assessment. *Maturitas*. 1995;21(1):51-6.

18. Ma B, Forney LJ, Ravel J. Vaginal microbiome: rethinking health and disease. *Annu Rev Microbiol.* 2012;66:371-89.
19. Mendling W. Vaginal Microbiota. *Adv Exp Med Biol.* 2016;902:83-93.
20. Calleja-Agius J, Brincat MP. The urogenital system and the menopause. *Climacteric.* 2015;18 Suppl 1:18-22.
21. Nappi RE, de Melo NR, Martino M, Celis-González C, Villaseca P, Röhrich S, et al. Vaginal Health: Insights, Views & Attitudes (VIVA-LATAM): results from a survey in Latin America. *Climacteric.* 2018;21(4):397-403.
22. Nappi RE, Particco M, Biglia N, Cagnacci A, Di Carlo C, Luisi S, et al. Attitudes and perceptions towards vulvar and vaginal atrophy in Italian post-menopausal women: Evidence from the European REVIVE survey. *Maturitas.* 2016;91:74-80.
23. Kingsberg SA, Wysocki S, Magnus L, Krychman ML. Vulvar and vaginal atrophy in postmenopausal women: findings from the REVIVE (REal Women's Views of Treatment Options for Menopausal Vaginal ChangEs) survey. *J Sex Med.* 2013;10(7):1790-9.
24. Cruz VL, Steiner ML, Pompei LM, Strufaldi R, Fonseca FLA, Santiago LHS, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial for evaluating the efficacy of fractional CO2 laser compared with topical estriol in the treatment of vaginal atrophy in postmenopausal women. *Menopause.* 2018;25(1):21-8.
25. Nappi RE, Palacios S. Impact of vulvovaginal atrophy on sexual health and quality of life at postmenopause. *Climacteric.* 2014;17(1):3-9.
26. Panel TNHTPSA. The 2017 hormone therapy position statement of The North American Menopause Society. *Menopause.* 2017;24(7):728-53.
27. Marques AdA, Pinto e Silva MP, Amaral MTP. *Tratado de Fisioterapia em Saúde da Mulher: ROCCA*; 2011.
28. Dumoulin C, Cacciari LP, Hay-Smith EJC. Pelvic floor muscle training versus no treatment, or inactive control treatments, for urinary incontinence in women. *Cochrane Database Syst Rev.* 2018;10:CD005654.
29. Urology EAo. Guidelines. 2017. p. http://uroweb.org/wp-content/uploads/Guidelines_WebVersion_Complete-1.pdf.
30. Bo K, Frawley HC, Haylen BT, Abramov Y, Almeida FG, Berghmans B, et al. An International Urogynecological Association (IUGA)/International Continence Society (ICS) joint report on the terminology for the conservative and nonpharmacological management of female pelvic floor dysfunction. *Neurourol Urodyn.* 2017;36(2):221-44.
31. Tomaszewski J. Postmenopausal overactive bladder. *Prz Menopauzalny.* 2014;13(6):313-29.
32. Gambacciani M, Palacios S. Laser therapy for the restoration of vaginal function. *Maturitas.* 2017;99:10-5.
33. Berlin AL, Hussain M, Phelps R, Goldberg DJ. A prospective study of fractional scanned nonsequential carbon dioxide laser resurfacing: a clinical and histopathologic evaluation. *Dermatol Surg.* 2009;35(2):222-8.
34. Pitsouni E, Grigoriadis T, Falagas ME, Salvatore S, Athanasiou S. Laser therapy for the genitourinary syndrome of menopause. A systematic review and meta-analysis. *Maturitas.* 2017;103:78-88.
35. Martins NV, Ribalta J. *Patologia do Trato Genital Inferior.* 1 ed2005.
36. Salvatore S, Nappi RE, Zerbinati N, Calligaro A, Ferrero S, Origoni M, et al. A 12-week treatment with fractional CO2 laser for vulvovaginal atrophy: a pilot study. *Climacteric.* 2014;17(4):363-9.

37. Conté C, Jauffret T, Vieillefosse S, Hermieu JF, Deffieux X. Laser procedure for female urinary stress incontinence: A review of the literature. *Prog Urol*. 2017;27(17):1076-83.
38. Pergialiotis V, Prodromidou A, Perrea DN, Doumouchtsis SK. A systematic review on vaginal laser therapy for treating stress urinary incontinence: Do we have enough evidence? *Int Urogynecol J*. 2017;28(10):1445-51.
39. Bhide AA, Khullar V, Swift S, Digesu GA. The use of laser in urogynaecology. *Int Urogynecol J*. 2018.
40. Hutchinson-Colas J, Segal S. Genitourinary syndrome of menopause and the use of laser therapy. *Maturitas*. 2015;82(4):342-5.
41. Tamanini JT, Dambros M, D'Ancona CA, Palma PC, Rodrigues Netto N. [Validation of the "International Consultation on Incontinence Questionnaire -- Short Form" (ICIQ-SF) for Portuguese]. *Rev Saude Publica*. 2004;38(3):438-44.
42. Pereira SB, Thiel RoR, Riccetto C, Silva JM, Pereira LC, Herrmann V, et al. [Validation of the International Consultation on Incontinence Questionnaire Overactive Bladder (ICIQ-OAB) for Portuguese]. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2010;32(6):273-8.
43. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J Clin Microbiol*. 1991;29(2):297-301.
44. Perino A, Cucinella G, Gugliotta G, Saitta S, Polito S, Adile B, et al. Is vaginal fractional CO2 laser treatment effective in improving overactive bladder symptoms in post-menopausal patients? Preliminary results. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2016;20(12):2491-7.
45. Walter JE, Larochele A. No. 358-Intravaginal Laser for Genitourinary Syndrome of Menopause and Stress Urinary Incontinence. *J Obstet Gynaecol Can*. 2018;40(4):503-11.
46. Athanasiou S, Pitsouni E, Antonopoulou S, Zacharakis D, Salvatore S, Falagas ME, et al. The effect of microablative fractional CO2 laser on vaginal flora of postmenopausal women. *Climacteric*. 2016;19(5):512-8.
47. Administration UFaD. FDA Warns Against Use of Energy-Based Devices to Perform Vaginal 'Rejuvenation' or Vaginal Cosmetic Procedures: FDA Safety Communication. 2018.
48. Ricciotti H. FDA warning on vaginal laser procedures should emphasize informed choices, not fear. Harvard Health Publishing; 2018.
49. (FEBRASGO) FBdAdGeO. MANIFESTAÇÃO DA FEBRASGO , ATRAVÉS DAS SUAS COMISSÕES NACIONAIS ESPECIALIZADAS, SOBRE O TEMA REJUVENESCIMENTO VAGINAL. *Revista Contemporânea de GO Femina* 2018. p. 294.

ANEXOS

ANEXO 1 – LISTA DE RANDOMIZAÇÃO

1 – Promestrieno	25 – Laser	49 – Laser
2 - Laser	26 – Laser	50 – Lubrificante
3 – Promestrieno	27 - Lubrificante	51 – Laser
4 – Laser	28 – Lubrificante	52 - Lubrificante
5 – Laser	29 – Laser	53 - Promestrieno
6 – Promestrieno	30 - Promestrieno	54 - Lubrificante
7 – Laser	31 – Lubrificante	55 - Laser
8 – Promestrieno	32 – Laser	56 - Promestrieno
9 – Lubrificante	33 – Lubrificante	57 - Lubrificante
10 - Lubrificante	34 – Lubrificante	58 - Promestrieno
11 - Lubrificante	35 – Promestrieno	59 - Laser
12 –Laser	36 – Lubrificante	60 - Promestrieno
13 –Lubrificante	37 – Lubrificante	61 - Promestrieno
14 - Lubrificante	38 – Promestrieno	62 - Lubrificante
15 - Lubrificante	39- Laser	63 – Promestrieno
16 –Laser	40 – Laser	64 - Promestrieno
17 - Promestrieno	41 – Laser	65 - Promestrieno
18 - Promestrieno	42 – Laser	66 - Laser
19 - Promestrieno	43 – Lubrificante	67 - Promestrieno
20 –Laser	44 – Laser	68 - Lubrificante
21 - Lubrificante	45 – Lubrificante	69 - Promestrieno
22 - Promestrieno	46 - Laser	70 - Laser
23 – Laser	47 – Promestrieno	71 - Promestrieno
24 - Lubrificante	48 – Lubrificante	72 - Promestrieno

ANEXO 2 - International Consultation on Incontinence Questionnaire - Short Form (ICIQ-UI SF)

ICIQ - SF																								
Nome do Paciente: _____ Data de Hoje: ____/____/____ Muitas pessoas perdem urina alguma vez. Estamos tentando descobrir quantas pessoas perdem urina e o quanto isso as aborrece. Ficaríamos agradecidos se você pudesse nos responder às seguintes perguntas, pensando em como você tem passado, em média nas ÚLTIMAS QUATRO SEMANAS. 1. Data de Nascimento: ____/____/____ (Dia / Mês / Ano) 2. Sexo: Feminino ☐ Masculino ☐																								
3. Com que frequência você perde urina? (assinale uma resposta) <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="text-align: right;">Nunca</td> <td style="text-align: center;">☐</td> <td style="text-align: right;">0</td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">Uma vez por semana ou menos</td> <td style="text-align: center;">☐</td> <td style="text-align: right;">1</td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">Duas ou três vezes por semana</td> <td style="text-align: center;">☐</td> <td style="text-align: right;">2</td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">Uma vez ao dia</td> <td style="text-align: center;">☐</td> <td style="text-align: right;">3</td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">Diversas vezes ao dia</td> <td style="text-align: center;">☐</td> <td style="text-align: right;">4</td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">O tempo todo</td> <td style="text-align: center;">☐</td> <td style="text-align: right;">5</td> </tr> </table>		Nunca	☐	0	Uma vez por semana ou menos	☐	1	Duas ou três vezes por semana	☐	2	Uma vez ao dia	☐	3	Diversas vezes ao dia	☐	4	O tempo todo	☐	5					
Nunca	☐	0																						
Uma vez por semana ou menos	☐	1																						
Duas ou três vezes por semana	☐	2																						
Uma vez ao dia	☐	3																						
Diversas vezes ao dia	☐	4																						
O tempo todo	☐	5																						
4. Gostaríamos de saber a quantidade de urina que você pensa que perde (assinale uma resposta) <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="text-align: right;">Nenhuma</td> <td style="text-align: center;">☐</td> <td style="text-align: right;">0</td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">Uma pequena quantidade</td> <td style="text-align: center;">☐</td> <td style="text-align: right;">2</td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">Uma moderada quantidade</td> <td style="text-align: center;">☐</td> <td style="text-align: right;">4</td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">Uma grande quantidade</td> <td style="text-align: center;">☐</td> <td style="text-align: right;">6</td> </tr> </table>		Nenhuma	☐	0	Uma pequena quantidade	☐	2	Uma moderada quantidade	☐	4	Uma grande quantidade	☐	6											
Nenhuma	☐	0																						
Uma pequena quantidade	☐	2																						
Uma moderada quantidade	☐	4																						
Uma grande quantidade	☐	6																						
5. Em geral quanto que perder urina interfere em sua vida diária? Por favor, circule um número entre 0 (não interfere) e 10 (interfere muito) <table style="width: 100%; border: none; text-align: center;"> <tr> <td>0</td><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td><td>6</td><td>7</td><td>8</td><td>9</td><td>10</td> </tr> <tr> <td colspan="5">Não interfere</td> <td colspan="6"></td> <td>Interfere muito</td> </tr> </table>		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Não interfere											Interfere muito
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10														
Não interfere											Interfere muito													
ICIQ Escore: soma dos resultados 3 + 4 + 5 = _____																								
6. Quando você perde urina? (Por favor assinale todas as alternativas que se aplicam a você) <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="text-align: right;">Nunca</td> <td style="text-align: center;">☐</td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">Perco antes de chegar ao banheiro</td> <td style="text-align: center;">☐</td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">Perco quando tusso ou espiro</td> <td style="text-align: center;">☐</td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">Perco quando estou dormindo</td> <td style="text-align: center;">☐</td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">Perco quando estou fazendo atividades físicas</td> <td style="text-align: center;">☐</td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">Perco quando terminei de urinar e estou me vestindo</td> <td style="text-align: center;">☐</td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">Perco sem razão óbvia</td> <td style="text-align: center;">☐</td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">Perco o tempo todo</td> <td style="text-align: center;">☐</td> </tr> </table>		Nunca	☐	Perco antes de chegar ao banheiro	☐	Perco quando tusso ou espiro	☐	Perco quando estou dormindo	☐	Perco quando estou fazendo atividades físicas	☐	Perco quando terminei de urinar e estou me vestindo	☐	Perco sem razão óbvia	☐	Perco o tempo todo	☐							
Nunca	☐																							
Perco antes de chegar ao banheiro	☐																							
Perco quando tusso ou espiro	☐																							
Perco quando estou dormindo	☐																							
Perco quando estou fazendo atividades físicas	☐																							
Perco quando terminei de urinar e estou me vestindo	☐																							
Perco sem razão óbvia	☐																							
Perco o tempo todo	☐																							

"Obrigado por você ter respondido às questões"

ANEXO 3 - International Consultation on Incontinence Questionnaire Overactive Bladder - (ICIQ-OAB)

ICIQ-OAB (Brazilian Portuguese)

Validado por
Pereira SB, Thiel RRC, Riccetto C, Silva JM, Pereira LC, Herrmann V, Palma P.
Rev Bras Ginecol Obstet. 2010; 32(6):273-8

Nome:	Data
-------	------

QUESTIONÁRIO SOBRE BEXIGA HIPERATIVA

Muitas pessoas sofrem eventualmente de sintomas urinários. Estamos tentando descobrir quantas pessoas têm sintomas urinários, e quanto isso incomoda. Agradecemos a sua participação ao responder estas perguntas, para sabermos como tem sido o seu incômodo **durante as últimas 04 semanas**.

1. Informe a sua data de nascimento ____/____/____

2. Informe seu sexo: Masculino () Feminino ()

3a. Quantas vezes você urina durante o dia?	
() 1 a 6 vezes	0
() 7 a 8 vezes	1
() 9 a 10 vezes	2
() 11 a 12 vezes	3
() 13 vezes ou mais	4
3b. O quanto isso incomoda você?	
Circule um número de 0 (não incomoda) a 10 (incomoda muito).	
0	10
1	2
3	4
5	6
7	8
9	10
Nada	Muito

4a. Durante a noite, quantas vezes, em média, você tem que se levantar para urinar?	
() nenhuma vez	0
() 1 vez	1
() 2 vezes	2
() 3 vezes	3
() 4 vezes ou mais	4
4b. O quanto isso incomoda você?	
Circule um número de 0 (não incomoda) a 10 (incomoda muito).	
0	10
1	2
3	4
5	6
7	8
9	10
Nada	Muito

5a. Você precisa se apressar para chegar ao banheiro para urinar?	
() nunca	0
() poucas vezes	1
() às vezes	2
() na maioria das vezes	3
() sempre	4
5b. O quanto isso incomoda você?	
Circule um número de 0 (não incomoda) a 10 (incomoda muito).	
0	10
1	2
3	4
5	6
7	8
9	10
Nada	Muito

6a. Você perde urina antes de chegar ao banheiro?	
() nunca	0
() poucas vezes	1
() às vezes	2
() na maioria das vezes	3
() sempre	4
6b. O quanto isso incomoda você?	
Circule um número de 0 (não incomoda) a 10 (incomoda muito).	
0	10
1	2
3	4
5	6
7	8
9	10
Nada	Muito

Muito obrigado por ter respondido este questionário.

Cálculo do escore = somatório simples das questões 3a, 4a, 5a, e 6a (mínimo = zero; máximo = 16). Quanto maior o valor do escore, maior o comprometimento.

ANEXO 4 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

EFEITOS DO LASER CO₂ FRACIONADO NOS SINTOMAS DA SÍNDROME GENITURINÁRIA DA MENOPAUSA E NO ECOSSITEMA VAGINAL: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO

Nome do(s) responsável(is)
Carlos Alberto Politano
Luiza Borges Aguiar

Número do CAAE: (63218716.0.0000.5404)

Você está sendo convidado a participar como voluntário de um estudo. Este documento, chamado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, visa assegurar seus direitos e deveres como participante e é elaborado em duas vias, uma que deverá ficar com você e outra com o pesquisador.

Por favor, leia com atenção e calma, aproveitando para esclarecer suas dúvidas. Se houverem perguntas antes ou mesmo depois de assiná-lo, você poderá esclarecê-las com o pesquisador. Se preferir, pode levar para casa e consultar seus familiares ou outras pessoas antes de decidir participar. Se você não quiser participar ou retirar sua autorização, a qualquer momento, não haverá nenhum tipo de penalização ou prejuízo.

Justificativa e objetivos:

O objetivo é comparar o efeito de tratamentos para atrofia vaginal e queixas urinárias. Você estará participando de um dos três grupos de tratamento, todos eles com eficiência comprovada e usados pelos profissionais em seus consultórios. Dessa forma poderemos dizer se há diferenças nos resultados entre eles. Isso é importante porque a atrofia vaginal, pode provocar secura, ardor e “coceira” vaginal interferindo no seu dia a dia, no relacionamento sexual e favorecendo infecções urinárias de repetição.

Procedimentos:

Sei que me encontro na menopausa, e que minha participação consiste em usar um medicamento dentro da vagina três vezes por semana ou 3 aplicações de laser de CO₂ fracionado durante três meses e atender as orientações que me serão dadas. Minha participação será por sorteio: poderei ficar no grupo do laser de CO₂, no de creme vaginal com hormônio ou no grupo que utilizará apenas hidratante vaginal. Durante esse tempo deverei comparecer a 4 consultas com o pesquisador nas quais responderei as perguntas, realizarei exame ginecológico, exames de sangue, ultrassonografia e aplicação vaginal de Laser de CO₂ fracionado.

Os exames de sangue para avaliação hormonal, coleta de citologia, medição do pH vaginal, biópsia vaginal e ultrassonografia acontecerão em 2 consultas. No grupo selecionado para laser vaginal o procedimento será realizado na Clínica Médica do pesquisador responsável. O laser tem a duração de 5 minutos e é indolor não sendo necessário anestesia para realização do tratamento com retorno as atividades normais após a aplicação. Uma pequena biópsia será realizada pelo médico antes de iniciar o laser e ao final do tratamento. Essa biópsia consiste na retirada de um fragmento muito pequeno da parede de dentro da minha vagina, sendo feita com anestesia local, e portanto não será dolorosa, apenas posso sentir um desconforto no local.

A ultrassonografia transvaginal será realizada na própria clínica do pesquisador antes de iniciar a pesquisa e após o término da pesquisa (após 12 semanas).

Desconfortos e riscos:

Você **não** deve participar deste estudo se apresentar alguma das condições abaixo:

- Paciente com ooforectomia bilateral
- Paciente com IMC inferior a 18,5 kg/m² ou superior a 30 kg/m².
- Apresentar contra indicação para uso de estrogênio tópico, sendo elas: Absolutas (Infarto recente do miocárdio, Hipertensão arterial grave, Diabetes melitus de difícil controle, Antecedente de moléstia tromboembólica, Insuficiência hepática recente, ou grave, ou em atividade, Câncer de mama prévio, Câncer do endométrio prévio, Câncer de colo uterino, Hiperplasia mamária atípica, sangramento genital de origem desconhecida); ou Relativas (Antecedente familiar de câncer de mama, Hiperplasia Endometrial prévia, Colelitíase).
- Apresentar sorologia positiva para HIV, Hepatite B e C e condilomatose genital
- Pacientes em tratamento medicamentoso para depressão ou outro distúrbio psiquiátrico.
- Radioterapia pélvica prévia
- Cirurgias no compartimento anterior, médio e posterior da vagina com “Sling” ou telas vaginais.

Os eventuais desconfortos referem-se principalmente ao exame de biópsia, ultrassonografia transvaginal e exames laboratoriais. A biópsia será realizada ambulatorialmente, sob anestesia local, sendo considerada minimamente invasiva e de excelente recuperação. O exame ginecológico e a ultrassonografia transvaginal são procedimentos realizados nas consultas ginecológicas de rotina. A coleta de exames é realizada por meio de exames de sangue.

Em situações de desconfortos maiores, as mulheres poderão entrar em contato com o pesquisador por meio de telefone pessoal ou da Clínica Politano. Todo suporte será dado para que se possa resolver o desconforto sem qualquer oneração.

Benefícios:

Com qualquer um dos três tratamentos haverá benefícios no tratamento da atrofia vaginal, diminuindo dessa forma o desconforto vaginal como secura, ardor, “coceira vaginal e queixas urinárias. “

Acompanhamento e assistência:

Todo suporte será fornecido as mulheres durante e após o prazo da pesquisa no que se refere ao objetivo do estudo. Isso inclui assistência às intercorrências clínicas e acesso direto as dúvidas no momento em que precisar, pelos telefones de contato.

Sigilo e privacidade:

Você tem a garantia de que sua identidade será mantida em sigilo e nenhuma informação será dada a outras pessoas que não façam parte da equipe de pesquisadores. Na divulgação dos resultados desse estudo, seu nome não será citado.

Os resultados do estudo poderão fazer parte do prontuário médico.

Ressarcimento:

Haverá ressarcimento das seguintes despesas:

- transporte até o local da pesquisa e de retorno a residência
- alimentação durante o período de realização dos exames

Armazenamento de material:

- O material biológico será avaliado no Laboratório “Instituto de Patologia Campinas”. Por isso, você deve anotar abaixo a opção que prefira:
☐ concordo em participar do presente estudo, porém NÃO AUTORIZO o armazenamento do meu material biológico, devendo o mesmo ser descartado ao final desta pesquisa.
☐ concordo em participar do presente estudo e AUTORIZO o armazenamento do meu material biológico, sendo necessário meu consentimento a cada nova pesquisa, que deverá ser aprovada pelo CEP institucional e, se for o caso, pela CONEP.
☐ concordo em participar do presente estudo e AUTORIZO o armazenamento do meu material biológico, dispensando meu consentimento a cada nova pesquisa, que deverá ser aprovada pelo CEP institucional e, se for o caso, pela CONEP.
 O descarte do material armazenado será autorizado nas seguintes situações: (detalhar).

Em caso de falecimento ou condição incapacitante, os direitos sobre o material armazenado deverão ser dados a: _____.

Contato:

Em caso de dúvidas sobre o estudo, você poderá entrar em contato com Luiza Borges Aguiar, no celular (19) 9.9956.6006 ou na Clínica Politano na Rua: Antonio Lapa, 1032, Cambui, Campinas, ou pelo telefone (19) 32522903.

Em caso de denúncias ou reclamações sobre sua participação no estudo, você pode entrar em contato com a secretaria do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP): Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126; CEP 13083-887 Campinas – SP; telefone (19) 3521-8936; fax (19) 3521-7187; e-mail: cep@fcm.unicamp.br

Consentimento livre e esclarecido:

Após ter sido esclarecimento sobre a natureza da pesquisa, seus objetivos, métodos, benefícios previstos, potenciais riscos e o incômodo que esta possa acarretar, aceito participar:

Nome do(a) participante: _____

_____ Data: ____/____/____.

(Assinatura do participante ou nome e assinatura do responsável)

ANEXO 5 – FICHA DE COLETA

Nome: _____

Nº Registro: _____

Data: ____/____/____

Grupo: () CO₂ Fracionado () Promestrieno () Lubrificante

1) Idade: _____ anos

2) Cor da pele: () Branca () Parda () Mulata () Negra

3) Tempo de Menopausa: _____ anos

4) Idade da Menopausa: _____ anos

5) Tabagismo: () Tabagista () Não Tabagista () Ex-tabagista

6) Antecedentes obstétricos reprodutivos : G____ P____ C____ A____

7) Drogas utilizadas _____

8) Escolaridade: _____ 9) Profissão: _____

10) Tem queixa de perda urinária quando tosse, ri ou carrega peso? () Sim () Não

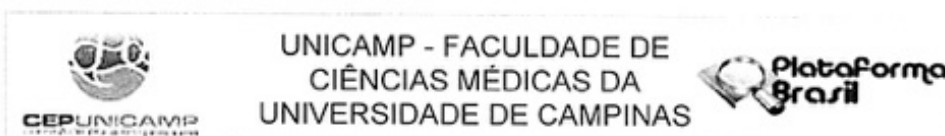
11) Tem queixa de dor durante a relação sexual? () Sim () Não

12) Tem queixa de secura ou ardor sexual? () Sim () Não

13) Você possui parceiro sexual? () Sim () Não

14) Se seu parceiro sexual for do sexo masculino, ele consegue manter o pênis ereto durante a relação sexual? () Sim () Não

ANEXO 6 – PARECER CONSUBSTANCIADO DA PLATAFORMA BRASIL



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Ensaio clínico, randomizado, com o uso tópico de laser de CO2 fracionado, estrogênio e lubrificante vaginal no tratamento da atrofia urogenital em mulheres pós menopausa

Pesquisador: Carlos Alberto Politano

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 63218716.0.0000.5404

Instituição Proponente: Hospital da Mulher Prof. Dr. José Aristodemo Pinotti - CAISM

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.944.364

Apresentação do Projeto:

Introdução: O climatério engloba a pré-menopausa, menopausa e pós-menopausa. É uma fase da vida em que ocorre uma diminuição progressiva na produção de estrógenos trazendo como consequência para o lado da mulher uma queda na autoestima, com problemas de relacionamento e interferência na vida sexual. A menopausa é a última menstruação da vida da mulher, e seu diagnóstico se dá retroativamente após um ano de amenorréia. A idade em que a menopausa fisiológica se instala é, geralmente, entre 40 e 55 anos e vem se mantendo apesar do aumento da expectativa de vida. A transição menopausal, anos que antecedem a última menstruação, caracteriza-se por flutuações hormonais intercalando ciclos ovulatórios com anovulatórios, e têm como manifestações clínicas mais frequentes irregularidades menstruais, labilidade emocional, fogachos, insônia e repercussões no trato urogenital. A vagina, a uretra e a bexiga têm alta concentração de receptores estrogênicos, e a diminuição dos níveis hormonais trazem alterações do trofismo urogenital com consequências na qualidade de vida da mulher. A vagina fica mais curta e menos elástica, com paredes finas e coloração pálida ocasionando secura vaginal, prurido, ardor e dispareunia. Essas modificações são comumente associadas a ausência de atividade sexual e/ou baixa função sexual feminina. Na insuficiência ovariana fisiológica (infância, pós-menopausa, após parto e lactação) ou adquirida (clínica ou cirúrgica) vamos ter achados de atrofia vaginal tanto

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



UNICAMP - FACULDADE DE
CIÊNCIAS MÉDICAS DA
UNIVERSIDADE DE CAMPINAS



Continuação do Parecer: 1.944.364

maior quanto a maior a deficiência estrogênica e pode ser classificada em três tipos distintos: leve quando nos esfregaços vaginais os achados de células profundas não excedem 30%; moderada quando presença de células basais e parabasais oscila entre 30 e 49%; acentuada na presença de mais de 50% de células profundas. As repercussões no trato urogenital levam a síndrome urogenital pós menopausa e é caracterizada pela queixa da mulher de secura vaginal, sinais objetivos de atrofia vaginal e pH superior a 5. Atualmente a terapia com estrógenos locais tem sido a mais utilizada. A atuação do estrógeno local, induz ao aumento do fluxo sanguíneo local e da glicogenização do epitélio vaginal, proporcionando uma melhora no trofismo do epitélio vaginal e estruturas adjacentes. Embora as terapias de estrogênio locais sejam eficazes e seguras, a taxa de adesão à medicação é bastante variável (52-74 %), principalmente devido a preocupações de segurança, inconveniência e falha no alívio dos sintomas (14). Além disso os dados sobre a segurança a longo prazo (mais de 1 ano) de tratamentos de estrógenos locais são escassos e, embora eles não parecem aumentar o risco de tromboembolismo venoso (TEV) ou câncer de endométrio, não existem dados disponíveis em pacientes de alto risco. Na atrofia vulvovaginal, ocorrem alterações histológicas, morfológicas, clínicas e alterações do colágeno com perda da disposição trabecular, diminuição da elasticidade, redução da vascularização e da espessura da mucosa. **Resumo Informativo** A Síndrome genito urinária é uma doença crônica e progressiva comum em mulheres na pós menopausa. Estima-se que metade da população de mulheres menopausadas apresentem sintomas vulvovaginais incluindo dispareunia, vagina seca e irritada e com as recidivas frequentes afetam a sua qualidade de vida. Avaliar novos tratamentos alternativos aos já utilizados permitirá o tratamento de pacientes que tenham contra-indicação ao uso de terapia hormonal. **Objetivos:** Comparar a eficácia do uso local de laser de CO2 fracionado, estrogênios e lubrificante vaginal no tratamento da síndrome genito urinária. **Sujeito e métodos:** Será realizado um ensaio clínico randomizado, envolvendo 60 mulheres na pós menopausa. Serão selecionadas e randomizadas as mulheres em seguimento no Ambulatório de Menopausa da Unicamp em três grupos de 20 mulheres em cada grupo para tratamento tópico vaginal: um grupo receberá laser de CO2 fracionado, outro grupo receberá estrogênio tópico e um grupo receberá lubrificante KY, por um período de 12 semanas. Será avaliado o trofismo, a citologia, o pH, a produção de colágeno, score de saúde vaginal, a satisfação e função sexual, no início e no término do tratamento. Também serão avaliados sintomas urogenitais e urológicos, aspectos da sexualidade e o nível da concentração sérica de estradiol e hormônio folículo estimulante (FSH). A análise estatística será realizada usando-se o teste do qui-quadrado e o teste ANOVA, exato de Fisher, não paramétrico de Kruskal-Wallis, Snedecor's F-teste. Esperamos, dessa forma contribuir

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Bairro: Barão Geraldo

CEP: 13.093-887

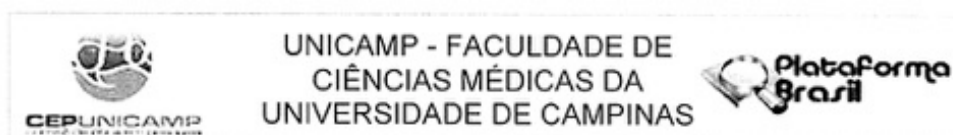
UF: SP

Município: CAMPINAS

Telefone: (19)3521-8936

Fax: (19)3521-7187

E-mail: cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 1.944.364

com novas alternativas para o atendimento a essas mulheres. Justificativa Os tratamentos disponíveis no Brasil para síndrome genito urinária apesar de eficazes a curto prazo, apresentam recidiva frequente e baixa aderência. Estudos com novas terapias mais eficazes em longo prazo são ainda mais escassos. Não se conhece no Brasil nenhum estudo realizado comparando o laser vaginal com o promestrieno vaginal e o lubrificante vaginal. A importância do estudo é avaliar novas estratégias de tratamento para síndrome genito urinária. Processo de Randomização A sequência de randomização das 78 mulheres será realizada de forma computadorizada utilizando-se o programa Microsoft Excel para o Windows 2007 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, EUA) e sua ordem será desconhecida o investigador. Serão selecionadas para participar desse estudo mulheres atendidas no Ambulatório de Menopausa do CAISM-UNICAMP durante as consultas que darão início ao tratamento, podendo ser tanto casos novos ou mulheres em acompanhamento. As mulheres que preencherem os critérios abaixo explicitados serão convidadas pela pesquisadora a participar do estudo. Caso elas aceitem, assinarão o Termo de Consentimento e serão randomizadas para serem distribuídas entre os grupos: aplicação de laser fracionado de CO₂, promestrieno vaginal e do lubrificante vaginal. Critérios de Inclusão FSH > 40 UI. Apresentar queixa clínica de secura associada a ou não há dispareunia, ardência vaginal ou prurido. Menopausa fisiológica com tempo de amenorréia superior a três anos. Idade entre 50 anos e 70 anos. Não estarem em uso de medicação hormonal para tratamento dos sintomas da menopausa nos últimos 6 meses. Possuir mamografia e Citologia Oncótica normal dos últimos 12 meses. 5.4.2. Critérios de Exclusão Recusa explícita da paciente em participar do estudo. Paciente com ooforectomia bilateral Paciente com IMC inferior a 18,5 kg/m² ou superior a 30 kg/m². Apresentar contra indicação para uso de estrogênio tópico, sendo elas: Absolutas (Infarto recente do miocárdio, Hipertensão arterial grave, Diabetes melitus de difícil controle, Antecedente de moléstia tromboembólica, Insuficiência hepática recente, ou grave, ou em atividade, Câncer de mama prévio, Câncer do endométrio prévio, Câncer de colo uterino, Hiperplasia mamária atípica, sangramento genital de origem desconhecida); ou Relativas (Antecedente familiar de câncer de mama, Hiperplasia Endometrial prévia, Colelitíase). Apresentar retocolite ulcerativa, Doença de Crohn ou diarreia decorrente de doença intestinal. Apresentar sorologia positiva para HIV, Hepatite B e C e condilomatose genital Pacientes em tratamento medicamentoso para depressão ou outro distúrbio psiquiátrico. Radioterapia pélvica prévia Cirurgias no compartimento anterior, médio e posterior da vagina com "Sling" ou telas vaginais.

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
 Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
 UF: SP Município: CAMPINAS
 Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br



UNICAMP - FACULDADE DE
CIÊNCIAS MÉDICAS DA
UNIVERSIDADE DE CAMPINAS



Continuação do Parecer: 1.944.364

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo geral

Comparar a eficácia e segurança do uso local de laser de CO2 fracionado, promestrieno vaginal e lubrificante vaginal no tratamento da síndrome genito urinária.

Objetivos específicos

- 1 – Comparar a citologia, histologia e as mudanças no meio vaginal após o uso de laser de CO2 fracionado, promestrieno vaginal e lubrificante vaginal.
- 2 – Comparar as alterações locais de elasticidade, fluidez, pH, integridade epitelial e flora vaginal após o uso tópico de estrogênio e laser de CO2 fracionado.
- 3 – Comparar a satisfação e função sexual após o uso de laser de CO2 fracionado, promestrieno vaginal ou lubrificante vaginal.
- 4 Comparar o tempo para alívio dos sintomas entre os dois métodos
- 5.- Avaliar as sintomas urinários antes e após o uso de laser de CO2 fracionado, promestrieno vaginal ou lubrificante vaginal.
- 6- Avaliar a segurança através da dosagem sérica de estradiol, avaliação ecográfica da linha endometrial e efeitos adversos entre os diferentes tratamentos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Você não deve participar deste estudo se apresentar alguma das condições abaixo: • Paciente com ooforectomia bilateral • Paciente com IMC inferior a 18,5 kg/m² ou superior a 30 kg/m². • Apresentar contra indicação para uso de estrogênio tópico, sendo elas: Absolutas (Infarto recente do miocárdio, Hipertensão arterial grave, Diabetes melitus de difícil controle, Antecedente de moléstia tromboembólica, Insuficiência hepática recente, ou grave, ou em atividade, Câncer de mama prévio, Câncer do endométrio prévio, Câncer de colo uterino, Hiperplasia mamária atípica, sangramento genital de origem desconhecida); ou Relativas (Antecedente familiar de câncer de mama, Hiperplasia Endometrial prévia, Colelitíase). • Apresentar retocolite ulcerativa, Doença de Crohn ou diarreia decorrente de doença intestinal. • Apresentar sorologia positiva para HIV, Hepatite B e C e condilomatose genital • Pacientes em tratamento medicamentoso para depressão ou outro distúrbio psiquiátrico. • Radioterapia pélvica prévia • Cirurgias no compartimento anterior, médio e posterior da vagina com "Sling" ou telas vaginais. Os eventuais desconfortos referem-se principalmente ao exame de biópsia, ultrassonografia transvaginal e exames laboratoriais. A biópsia será realizada ambulatorialmente, sob anestesia local, sendo considerada minimamente invasiva e de excelente recuperação. O exame ginecológico e a ultrassonografia transvaginal são procedimentos realizados nas consultas ginecológicas de

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Bairro: Barão Geraldo

CEP: 13.083-867

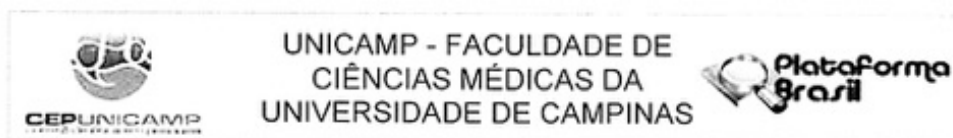
UF: SP

Município: CAMPINAS

Telefone: (19)3521-8936

Fax: (19)3521-7187

E-mail: cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 1.944.354

rotina. A coleta de exames é realizada por meio de exames de sangue. Em situações de desconfortos maiores, as mulheres poderão entrar em contato com o pesquisador por meio de telefone pessoal ou da Clínica Político. Todo suporte será dado para que se possa resolver o desconforto sem qualquer oneração. Benefícios: Com qualquer um dos três tratamentos haverá benefícios no tratamento da atrofia vaginal, diminuindo dessa forma o desconforto vaginal como secura, ardor, "coceira vaginal e queixas urinárias.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto de doutorado com orientação da Profa. Dra. Lucia Helena Simões da Costa Paiva. O tamanho da amostra foi baseado na diferença encontrada em estudos anteriores, entre os grupos hormônio DHEA e placebo, considerando-se um poder do teste de 80%, um nível de significância de 5% e o teste T de Student.

Variáveis Independentes: Uso de promestrieno vaginal; Aplicação de laser de CO2 fracionado; Grupo controle. Variáveis Dependentes: Citologia vaginal; PH vaginal; Trofismo da mucosa vaginal; colágeno; Microbiota vaginal, sexualidade, Medida da espessura do endométrio. Variáveis de Controle: idade; Anos de escolaridade, raça, tabagismo, Tempo de menopausa, Medicamentos concomitantes, Antecedentes Obstétrico-Reprodutivos, Nível de estradiol e FSH.

PROCEDIMENTOS:

1- O laser de CO2 fracionado, é um dos lasers mais potentes, pois é um gás que mistura dióxido de carbono, hélio e nitrogênio em proporções adequadas. As pesquisas iniciadas realizada por pesquisadores italianos observaram melhoras clínicas e histológicas com a aplicação do Laser vaginal em atrofia vaginal. Foram determinados parâmetros de potência (w), tempo de permanência (micro segundos) e distância (micro m) e estaqueamento que são pré-determinados pelo equipamento. As pesquisa demonstram melhoria na atrofia vaginal sem relatos de intercorrências apenas com variabilidade na positividade dos resultados.

2- Índice de Massa Corporal (IMC)

3- citologia vaginal

4- biopsia vaginal

5- Exames Laboratoriais: FSH, Estradiol sérico

6- Ultrassonografia transvaginal 7- Ficha de Coleta de Dados

8- QUESTIONARIO DE AVALIAÇÃO DE FUNÇÃO SEXUAL

9- Questionário de Bexiga Hiperativa.

Apresenta uma tabela com o que será realizado em cada visita (Anexo 2 - ficha de coleta de dados

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
 Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
 UF: SP Município: CAMPINAS
 Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br



UNICAMP - FACULDADE DE
CIÊNCIAS MÉDICAS DA
UNIVERSIDADE DE CAMPINAS



Continuação do Parecer: 1.944.364

no documento Projeto_21_Dezembro_16.pdf".

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- 1- Parecer_caism_unicamp.pdf: aprovado pela Comissão de Pesquisa do Caim em abril 2016.
- 2- atestado_matricula.pdf: Curso: 91 - Doutorado em Tocoginecologia
- 3- folhaderosto1.pdf: adequada
- 4-

ORÇAMENTO: Total em R\$ R\$ 16.076,21

Declara Apoio Financeiro da FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Todas as pendências foram adequadamente adequadas.

Projeto aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

- O sujeito de pesquisa deve receber uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado.
- O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado.
- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado. Se o pesquisador considerar a descontinuação do estudo, esta deve ser justificada e somente ser realizada após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou. O pesquisador deve aguardar o parecer do CEP quanto à descontinuação, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante.
- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido e enviar notificação ao CEP junto com seu posicionamento.
- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.
- Relatórios parciais e final, em formulário próprio do CEP, devem ser apresentados ao CEP.

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

Bairro: Barão Geraldo

CEP: 13.083-867

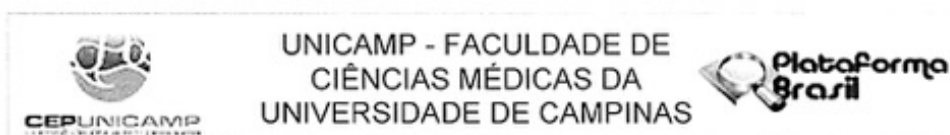
UF: SP

Município: CAMPINAS

Telefone: (19)3521-8936

Fax: (19)3521-7187

E-mail: cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 1.944.354

inicialmente seis meses após a data deste parecer de aprovação e ao término do estudo.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_847065.pdf	14/02/2017 11:12:39		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEFev.pdf	14/02/2017 11:12:01	Carlos Alberto Politano	Aceito
Outros	CARTACEPPOLITANOFEV2017.pdf	14/02/2017 11:11:51	Carlos Alberto Politano	Aceito
Outros	Parecer_caism_unicamp.pdf	21/12/2016 11:31:21	Carlos Alberto Politano	Aceito
Outros	atestado_matricula.pdf	21/12/2016 11:31:00	Carlos Alberto Politano	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_21_Dezembro_16.pdf	21/12/2016 11:30:12	Carlos Alberto Politano	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_21_Dezembro_16.pdf	21/12/2016 11:29:28	Carlos Alberto Politano	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto1.pdf	21/12/2016 11:27:29	Carlos Alberto Politano	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAMPINAS, 01 de Março de 2017

Assinado por:
Maria Fernanda Ribeiro Bittar
(Coordenador)

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
UF: SP Município: CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br