

Estudo da microbiota vaginal em mulheres após a menopausa com o uso de isoflavonas via vaginal

Vaginal microbiota in postmenopausal women with vaginal isoflavones

João Duvilio de Biazzi Andreotti¹, Sônia Maria Rolim Rosa Lima², Camila Matsuura Endo¹, Bianca Franco Augusto Bernardo³, Anna Carolina Scorzelli⁴, Flávio Guimarães Fortunato⁴, Debora Tomita Watanabe⁴, Suzethe Matiko Sasagawa⁵, Silvia Saito Yamada⁶, Suely Mitoi Ykko Ueda⁷

Resumo

Objetivo: Análise comparativa da microbiota vaginal em mulheres após a menopausa com e sem o uso de isoflavonas derivadas do *Glycine max* (L.) Merr com proposição de uma via de administração alternativa dos fitoestrogênios (tópica, vaginal). **Métodos:** Ensaio clínico, randomizado com mulheres após a menopausa, acompanhadas no Ambulatório de Fitoterapia da Santa Casa de São Paulo. Foram estudados a microbiota vaginal, o pH vaginal, o FSH sérico e aplicado o “Questionário de Avaliação dos Sintomas de Atrofia Genital”, com análise comparativa antes do uso de creme vaginal de Isoflavonas ou placebo, após 30 dias e após 90 dias do tratamento. **Resultados:** Participaram do estudo 56 mulheres, sendo 29 pertencentes ao Grupo I (Isoflavonas) e 27 ao Grupo II (Placebo). A microbiota encontrada em ambos os Grupos foi semelhante em T0, T30 e T90, prevalecendo espécies acidófilas *Staphylococcus coagulase negativo*, *Enterococcus sp*, *Escherichia coli* e *Bacillus sp*, com variação no grupo Isoflavonas. Quanto ao pH vaginal, houve redução

estatisticamente significativa em T30 e T90 no Grupo I, o que não ocorreu no Grupo II. Já em relação ao FSH, não houve diferença significativa nos tempos estudados. Com relação ao Questionário de Sintomas de Atrofia Urogenital, observamos que no grupo Isoflavonas houve melhora em todos os sintomas e, no Placebo, apenas a secura e prurido tiveram melhora após 90 dias do tratamento. **Conclusões:** Houve modificação da Microbiota Vaginal, melhora do pH vaginal e dos sintomas de atrofia urogenital no grupo Isoflavonas, constituindo assim proposta terapêutica para uso pela via vaginal.

Descritores: Menopausa, Fitoestrógenos, Isoflavonas, Vagina/microbiologia

Abstract

Objective: Comparative analysis of the vaginal microflora in postmenopausal women with and without use of isoflavones derived from *Glycine max* (L.) Merr with the proposition of an alternative route of administration of phytoestrogens (topical, vaginal). **Methods:** It was a randomized clinical trial with postmenopausal women followed in the Clinic of Herbal Medicine, Santa Casa de São Paulo clinical trial. It was analyzed the vaginal flora, vaginal pH, FSH serum of patients before using isoflavones vaginal cream or placebo for 30 days and 90 days after the beginning of treatment. It was also performed the “Questionnaire Assessment of Symptoms of Genital Atrophy”. **Results:** There were 56 women participating in the study, 29 in group I (Isoflavones) and 27 to Group II (placebo). The microbiota found in both groups was similar in T0, T30 and T90, prevailing acidophilic species of *Staphylococcus coagulase-negative*, *Enterococcus sp* *Escherichia coli* and *Bacillus sp* with variation in isoflavones group. As for the vaginal pH, a statistically significant reduction was found in T30 and T90 in Group I, which did not occur in Group II. In relation to FSH, there was no significant difference found in the study. Regarding the “Questionnaire Urogenital Atrophy Symptoms”, it was observed that there was an improvement in the group Isoflavones in all symptoms and the Placebo

1. Acadêmico da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – 6º Ano do Curso de Graduação em Medicina

2. Professora Adjunta da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – Departamento de Ginecologia e Obstetrícia

3. Pós Graduada em Pesquisa da Cirurgia pela Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo

4. Acadêmico da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – 5º Ano do Curso de Graduação em Medicina

5. Biotécnica da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – Departamento de Ciências Patológicas

6. Mestre em Medicina (Tocoginecologia) pela Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo

7. Professora Assistente da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – Departamento de Ciências Patológicas

Trabalho realizado: Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo. Departamento de Obstetrícia e Ginecologia. Ambulatório de Fitoterapia no Climatério do Ambulatório de Especialidades “Dr. Geraldo Bourroul” (AEGB)

Endereço para correspondência: João Duvilio de Biazzi Andreotti. Rua Teixeira da Silva, 240 – aptº 23 – Paraíso – 04002-030 – São Paulo – SP - Brasil

group it was only observed that the dryness and itching had improved after 90 days of treatment. **Conclusions:** There was a modification of the vaginal microbiota, improvement in vaginal pH and symptoms of urogenital atrophy in isoflavones group, thus providing therapeutic proposal for use via vaginal.

Key words: Menopause, Phytoestrogens, Isoflavones, Vagina/microbiology

Introdução

O período após a menopausa pode ser crítico para muitas mulheres, especialmente para aquelas que apresentam sintomas urogenitais como secura vaginal, prurido, corrimentos, dispareunia, entre outros⁽¹⁻³⁾. Bactérias residentes do trato genital obtêm do epitélio local o glicogênio utilizado em sua nutrição constituindo, através da produção de ácido láctico, um fator protetor contra a proliferação bacteriana patológica^(3,4). A concentração de glicogênio disponível para essa microbiota depende das condições de desenvolvimento do epitélio urogenital, definido pela presença de hormônios estrogênicos, entre outros fatores^(2,5,6). Dessa forma, o hipoestrogenismo característico do período do climatério permite o desenvolvimento de microbiota patológica⁽⁷⁻¹⁰⁾. A análise, portanto, da microbiota vaginal é ferramenta de compreensão da condição de saúde do trato urogenital^(5,8,9,11). Há tentativas insatisfatórias de melhora da saúde urogenital com terapia hormonal e terapia oral de fitoestrogênios, porém, essas condutas se relacionam, respectivamente, à presença de reações adversas e de resultados terapêuticos não confirmados⁽⁹⁻¹²⁾. Por outro lado, a aplicação de fitoestrogênios por via vaginal aparenta ser satisfatória pela possibilidade de ação local com pouca interação sistêmica e pela farmacodinâmica típica dos fitomedicamentos⁽¹³⁻¹⁹⁾. Assim, o estudo da microbiota vaginal de mulheres após a menopausa, com uso de fitoestrogênios derivados do *Glycine max (L.) Merr* por via vaginal, será um passo importante na compreensão e desenvolvimento desse novo medicamento.

Objetivo

Análise comparativa da microbiota vaginal em mulheres após a menopausa com e sem o uso de isoflavonas derivadas do *Glycine max (L.) Merr* (Hebron®) por via vaginal. Proposição de uma alternativa terapêutica através dos fitoestrogênios como forma de preservação da microbiota vaginal e prevenção de infecções. Utilização de via de administração alternativa dos fitoestrogênios (tópica, via vaginal). Comparar nossos resultados com Grupo placebo (mesma composição do gel porém isento de isoflavonas)

Casuística e método

Ensaio clínico, randomizado, placebo-controlado em grupo de mulheres após a menopausa, acompanhadas durante a pesquisa por noventa dias no Ambulatório de Fitoterapia no Climatério do Ambulatório de Especialidades “Dr. Geraldo Bourroul” (AEGB) da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo. Foi estudada a microbiota vaginal, o pH vaginal, a dosagem de FSH sérico e aplicado o “Questionário de Avaliação dos Sintomas de Atrofia Genital” avaliando em escala de 0 a 3 (0 sem o sintoma e 3 sintoma intenso) os sintomas: Secura vaginal, Dispareunia, Dor/ardor, Prurido e Secreção para análise comparativa antes e após uso do creme vaginal contendo isoflavonas e placebo. O material coletado foi analisado com auxílio da equipe da Disciplina de Microbiologia do Departamento de Ciências Patológicas da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo em São Paulo. O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi assinado por todas as mulheres e a pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Santa Casa de São Paulo, com o protocolo de número 119/11. Auxílio à Pesquisa - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo 2011/13836-4.

Crítérios de inclusão – Mulheres no período após a menopausa com uma das seguintes queixas: secura vaginal, prurido, dor/ardor, dispareunia, secreção vaginal, disúria, polaciúria, urgência miccional ou incontinência urinária. A menopausa foi considerada como a presença de amenorréia ≥ 1 ano com FSH ≥ 30 mUI/mL de acordo com os critérios da *The North American Menopause Society* e da Federação Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia⁽²⁰⁾.

Crítérios de exclusão – Uso de terapia hormonal (TH) ou com indicação para TH; mulheres com queixa de ondas de calor; neoplasia maligna de mama, endométrio ou qualquer outra neoplasia, exceto câncer de pele não-melanoma tratado; sangramento genital anormal, de causa desconhecida após a menopausa; história de tromboembolismo atual ou prévio (trombose venosa profunda, tromboflebite, doença tromboembólica); porfiria; antecedentes de hiperplasia atípica mamária ou mamografia com anormalidade significativa; alterações na citologia oncótica cervicovaginal de *Papanicolaou* (neoplasias intra-epiteliais de baixo e alto grau de malignidade, alterações de células escamosas ou glandulares de significado indeterminado e neoplasia cervical) e diagnóstico de vaginoses.

Foram coletadas amostras de microbiota vaginal e pH vaginal e aplicado o Questionário de Avaliação dos Sintomas de Atrofia Genital antes do início, e com 30 e 90 dias após o tratamento com o creme de isoflavonas ou placebo.

O material coletado foi analisado no Laboratório de Microbiologia do Serviço de Controle de Infecção Hospitalar e da FCMSCSP. As amostras foram processadas de acordo com os critérios do serviço^(21,22).

A análise estatística dos dados clínicos, FSH, pH vaginal e questionário de sintomas de atrofia urogenital foi realizada com teste *t de Student* para amostras pareadas e a microbiota analisada com testes McNemar e qui-quadrado. Os programas utilizados foram Epi Info™ 7 e SPSS Statistics.

Resultados

Foram atendidas 150 mulheres e 56 terminaram o estudo. Dessas 56 mulheres acompanhadas por 90 dias, 29 pertenceram ao Grupo I (Isoflavonas) que usou 1g de creme vaginal de Isoflavonas (a 4%) derivado do *Glycine max (L.) Merr* (Hebron®) e 27 ao Grupo II (Placebo) que usou 1g de creme vaginal sem princípio ativo.

Todas as mulheres estavam no período após a menopausa, apresentando: média de idade de 59,17 anos ($\pm 1,1$) vs 59,92 anos ($\pm 1,95$); peso médio de 64,68kg ($\pm 4,44$) vs 66,8kg ($\pm 5,17$); estatura média 1,56 m ($\pm 0,02$) vs 1,55 m ($\pm 0,03$); IMC médio 26,75 ($\pm 1,99$) vs 27,57 ($\pm 1,72$); circunferência abdominal média 91,59 cm ($\pm 4,06$) vs 91,62 cm ($\pm 4,83$); idade da menopausa 48,03 anos ($\pm 2,05$) vs 47 anos ($\pm 2,03$) e menarca aos 13,69 anos ($\pm 0,75$) vs 12,42 anos ($\pm 0,61$), sendo as amostras homogêneas (Intervalo de Confiança de 95%) (Tabela 1).

Quanto ao pH vaginal no Grupo I, em T0: 7,21 ($\pm 0,29$), após 30 dias (T30) do uso do creme vaginal: 5,76 ($\pm 0,26$) (T0 vs T30, $p < 0,001$) e após 90 dias: 5,3 ($\pm 0,25$) (T0 vs T90, $p < 0,001$). No Grupo II, em T0, o pH vaginal: 7,42 ($\pm 0,33$) e de 6,92 ($\pm 0,4$) em T30 (T0 vs T30, $p = 0,051$) e em T90 de 6,96 ($\pm 0,37$) (T0 vs T90, $p = 0,88$). Quando comparamos o pH vaginal em T0 para o Grupo I com o pH vaginal em T0 para o Grupo II não encontramos diferença significativa ($p = 0,345$) mas

quando comparamos o pH vaginal entre esses grupos no tempo T90 a diferença passou a ser significativa ($p < 0,001$) (Figura 1).

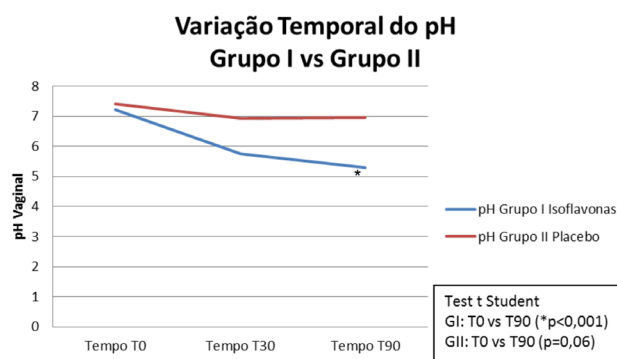


Figura 1. Variação temporal do pH vaginal das mulheres dos Grupos I (Isoflavonas) e II (Placebo) nos tempos T0, T30 e T90 dias de uso de creme vaginal.

Com relação ao FSH encontramos no Grupo I, em T0: 58,66 ($\pm 8,97$) e em T90: 57,23 ($\pm 10,18$) ($p = 0,88$). Com relação ao FSH para o Grupo II, em T0: 71,56 ($\pm 12,09$) e em T90: 70,63 ($\pm 13,12$) ($p = 0,87$). Não houve, portanto, diferença significativa em relação ao FSH nos tempos estudados (Figura 2).

Com relação ao Questionário de Sintomas de Atrofia Urogenital (variação de 0 para ausência de sintoma e 3 para forte intensidade), observamos que houve melhora clínica estatisticamente significativa no Grupo Isoflavonas comparando T0 vs T30 para os seguintes sintomas: seca ($p < 0,001$); prurido ($p = 0,013$); dor e ardor ($p = 0,001$); dispareunia ($p = 0,002$) e secreção ($p = 0,039$) e comparando T0 vs T90 observamos melhora em todos os sintomas: seca ($p < 0,001$); prurido ($p = 0,002$); dor e ardor ($p < 0,001$); queimação ($p = 0,007$); dispareunia ($p < 0,001$) e secreção ($p = 0,012$). Com relação ao Grupo Placebo II, nos tempos T0 vs T30, houve melhora nos sintomas seca ($p = 0,038$) e prurido ($p = 0,001$) e comparando os tempos T0 vs T90,

Tabela 1

Dados Clínicos das mulheres dos Grupos I (Isoflavonas) e Grupo II (Placebo)

	Grupo I Isoflavonas	Grupo II Placebo	P
Idade (anos)	59,17 ($\pm 1,1$)	59,92 ($\pm 1,95$)	NS
Menopausa (anos)	48,03 ($\pm 2,05$)	47,00 ($\pm 2,03$)	NS
Menarca (anos)	13,69 ($\pm 0,75$)	12,42 ($\pm 0,61$)	NS
Peso (kg)	64,68 ($\pm 4,44$)	66,80 ($\pm 5,17$)	NS
Estatura (m)	1,56 ($\pm 0,02$)	1,55 ($\pm 0,03$)	NS
IMC	26,75 ($\pm 1,99$)	27,57 ($\pm 1,72$)	NS
Circunferência Abdominal	91,59 ($\pm 4,06$)	91,62 ($\pm 4,83$)	NS

* $p < 0,05$ (t Student) - NS - Não Significante; IMC - Índice de Massa Corpórea

Varição Temporal do FSH Grupo I vs Grupo II

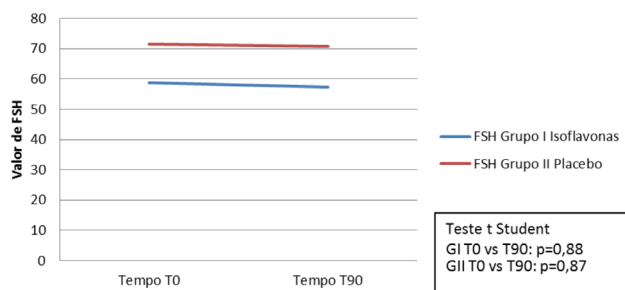


Figura 2. Variação temporal do FSH das mulheres dos Grupos I (Isoflavonas) e II (Placebo) nos tempos T0, T30 e T90 dias de uso de creme vaginal.

observamos melhora em secura ($p=0,001$) e prurido ($p=0,006$) (Figura 3).

Média das notas dos sintomas Grupo I vs Grupo II

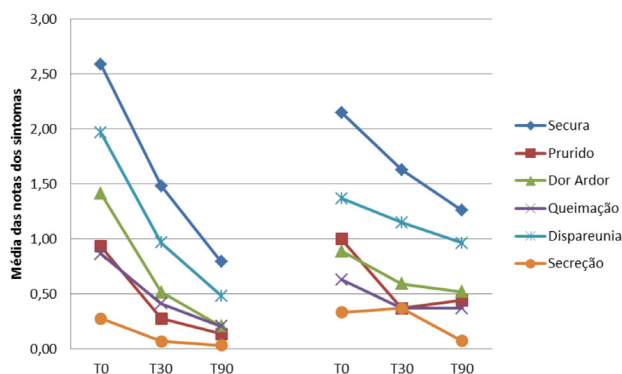


Figura 3. Comparação entre as médias das notas referidas pelos Grupos I (Isoflavonas) e II (Placebo) para cada sintoma ao longo dos tempos T0, T30 e T90 dias de uso de creme vaginal.

A microbiota encontrada em ambos os Grupos foi semelhante em T0, T30 e T90. No grupo I Isoflavonas em T0 estavam presentes: *Enterococcus sp* (58,62%), *Staphylococcus coagulase negativo* (48,27%), *Escherichia coli* (17,24%) e *Candida sp* (3,44%); em T30, *Enterococcus sp* (34,48%), *Staphylococcus coagulase negativo* (27,58%), *Escherichia coli* (24,13%), *Candida sp* (13,79%) e *Bacillus sp* (3,44%); em T90, *Enterococcus sp* (48,27%), *Staphylococcus coagulase negativo* (44,82%), *Escherichia coli* (20,60%), *Candida sp* (24,13%) e *Bacillus sp* (13,79%). No Grupo II, os microrganismos encontrados em T0 foram *Enterococcus sp* (33,33%), *Staphylococcus coagulase negativo* (33,33%), *Escherichia coli* (18,51%), *Candida sp* (7,40%) e *Bacillus sp* (11,11%); em T30, *Enterococcus sp* (33,33%), *Staphylococcus coagulase negativo* (50%), *Escherichia coli* (14,81%), *Candida sp* (3,70%) e *Bacillus sp* (7,40%); e em T90, *Enterococcus sp* (33,33%), *Staphylococcus coagulase negativo* (44,44%),

Escherichia coli (25,92%), *Candida sp* (3,70%) e *Bacillus sp* (3,70%) (Figura 4).

Microrganismos encontrados (%)

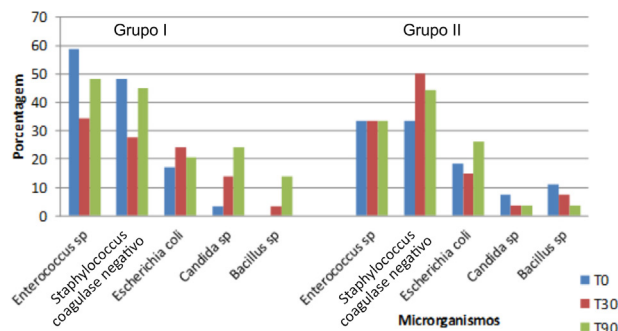


Figura 4. Microrganismos encontrados nas mulheres dos Grupos I (Isoflavonas) e II (Placebo) nos tempos T0, T30 e T90 dias de uso de creme vaginal (%).

Quando comparamos os microrganismos encontrados nos Grupos I e II, observamos que não houve diferença estatisticamente significativa (Teste McNemar) e que houve modificação estatisticamente significativa após o uso dos cremes vaginais de Isoflavonas apenas para *Enterococcus sp* (tempo T0 vs T30, $p=0,03$) e *Bacillus sp* (tempo T30 vs T90, $p=0,01$) (Tabela 2).

As espécies de microrganismos encontradas em menor quantidade foram *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus bovis*, *Corynebacterium sp*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, *enterobacter sp*, *Proteus sp*, *Streptococcus agalactiae* e *Micrococcus sp*.

Discussão

Em nosso estudo analisamos o efeito das isoflavonas derivadas do *Glycine max* (L.) Merr na microbiota vaginal de mulheres após a menopausa, sem sintomas sistêmicos, com queixas exclusivas de atrofia vaginal, durante seu uso por noventa dias através da administração tópica de gel com produto ativo comparado ao placebo. Estudamos também o pH vaginal, a concentração sérica de estradiol e a avaliamos os sintomas de atrofia genital.

Em trabalho realizado anteriormente em nosso serviço foi utilizado o creme de isoflavonas derivadas do *Glycine max* (L.) Merr (Hebron®) na concentração 4% de isoflavonas totais, este produto é o mesmo que utilizamos em nosso trabalho⁽²²⁾. Trata-se de produto desenvolvido no Brasil com concentração padronizada⁽²³⁾.

Notamos que ainda há escassez de estudos em relação ao uso das isoflavonas pela via vaginal após a menopausa e ausência de publicações avaliando o seu

Tabela 2

Comparação dos microorganismos encontrados nos Grupos I (Isoflavonas) e II (Placebo) ao longo dos tempos T0, T30 e T90 dias de uso de creme vaginal. (valores de *p*)

Teste McNemar		<i>Bacillus sp</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. coagulase negativo</i>	<i>Enterococcus sp</i>	<i>Candida sp</i>
Grupo I	T0 vs T30	zero	0,750	0,25< <i>p</i> <0,10	0,05<* <i>p</i> <0,025	0,375
Grupo I	T0 vs T90	-	-	zero	0,75< <i>p</i> <0,50	0,070
Grupo I	T30 vs T90	0,025<* <i>p</i> <0,01	-	0,25< <i>p</i> <0,50	0,50< <i>p</i> <0,25	-
Grupo II	T0 vs T30	-	-	zero	-	-
Grupo II	T0 vs T90	0,75< <i>p</i> <0,50	0,25< <i>p</i> <0,50	0,75< <i>p</i> <0,50	-	-
Grupo II	T30 vs T90	zero	0,25< <i>p</i> <0,50	0,75< <i>p</i> <0,50	-	-
T0	Grupo I vs II	-	0,820	0,260	0,057	0,940
T30	Grupo I vs II	0,950	0,380	0,260	0,920	0,390
T90	Grupo I vs II	0,390	0,640	0,450	0,260	0,070

Teste McNemar e Qui-quadrado - **p*<0,05

efeito na microbiota vaginal com o uso de Isoflavona por via vaginal, o que torna nosso estudo inédito⁽²⁴⁻²⁶⁾.

As concentrações séricas de FSH antes e após a utilização de cada produto, em ambos os grupos permaneceram inalteradas, ou seja, não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre as médias de concentração de FSH no início do tratamento e aos 90 dias entre os dois grupos terapêuticos. Destaca-se o valor deste achado visto que a absorção sistêmica de estrogênios por via vaginal é uma preocupação importante por refletir a segurança do tratamento. Quando analisamos vários estudos comparando diferentes doses de estradiol administrados na forma de comprimidos vaginais ou diferentes preparações vaginais de estrogênios (estrogênios conjugados equinos e estradiol), concluímos que a absorção sistêmica pode ou não ocorrer na dependência do tempo de uso e da dose utilizada^(27,28). Por outro lado, também foi demonstrado que essa absorção pode diminuir com o tempo^(29,30). No entanto, isso constitui motivo de contra-indicação para as mulheres com antecedentes de câncer de mama e outros cânceres hormônio-dependentes⁽¹²⁾.

O hipoestrogenismo decorrente da falência gonadal própria do período do climatério está diretamente relacionado aos sintomas de atrofia urogenital, à alteração de microbiota vaginal e à alcalinização de pH vaginal.

A medida do pH vaginal pode ser utilizada para o diagnóstico de menopausa, podendo refletir as concentrações de estrogênio circulantes. De fato, a atrofia vaginal decorrente do hipoestrogenismo é acompanhada de um aumento no pH normal, que varia de 3,5 a 5 para 6,0 a 8,0, o que destrói a barreira de defesa da vagina contra agentes infecciosos⁽³¹⁻³³⁾. Em nosso estudo, ao avaliarmos o pH vaginal no início e

após 90 dias de tratamento, observamos que apenas o grupo de mulheres que fez uso do creme com isoflavonas apresentou redução significativa neste quesito, resultado altamente desejável, semelhante ao pH de mulheres no menacme.

Estudamos mulheres que no início do tratamento eram semelhantes para os parâmetros idade, idade da menopausa, idade da menarca, FSH sérico, cintura abdominal, peso e estatura, e observamos que houve predominância microbiológica de *Enterococcus sp*, *Staphylococcus coagulase negativo*, *Escherichia coli*, *Candida sp* e *Bacillus sp*, comprovando - em concordância com a literatura em estudos microbiológicos e biomoleculares - que a microbiota vaginal de mulheres após a menopausa é composta por microrganismos potencialmente patogênicos, entretanto, não havendo necessariamente infecção, mas condição potencial para infecções do trato urinário e vaginose bacteriana^(34,35).

As isoflavonas utilizadas por via vaginal modificaram a microbiota local, elevando a concentração de *Bacillus sp* (T30 vs T90) e *Enterococcus sp* (T0 vs T30), bactérias acidófilas, e houve tendência à modificação dos demais microrganismos encontrados, tais como *Escherichia coli* e *Candida sp*, também acidófilos, o que poderá ser comprovado em estudos com casuística maior.

Há escassez na literatura da análise microbiológica com o uso de Isoflavonas por via vaginal, o que dificulta comparações entre os resultados encontrados; entretanto, a hipótese de que o efeito estrogênio-*simile* das isoflavonas por via vaginal, que leva ao aumento do trofismo vaginal (substrato para a colonização de microbiota com acidificação vaginal) poderia justificar o aumento de microrganismos acidófilos. Assim, a análise do pH vaginal permite correlacionar a acidificação vaginal encontrada no Grupo I Isoflavonas com

o aumento de microbiota acidófila nesse grupo, fato não ocorrido com o Grupo Placebo⁽²⁴⁾.

Verificamos que o efeito estrogênio-*símile* dos fitoestrógenos melhorou a condição hipoestrogênica do trato urogenital das mulheres neste período levando à melhora dos sintomas de atrofia urogenital no Grupo Isoflavonas; isto sugere que a modificação da microbiota ocorreu como resultado de colonização e não de infecção, corroborando a hipótese de que a microbiota vaginal pode apresentar microrganismos potencialmente patogênicos sem causar doença. Porém, não há na literatura estudos específicos com Isoflavonas via vaginal que analisam a correlação da modificação da microbiota vaginal com a modificação de sintomas de atrofia urogenital^(34,35).

O estudo da flora vaginal tem especial interesse visto suas alterações serem motivo de alta prevalência de queixas em ambulatório de ginecologia. Esperamos que os resultados aqui demonstrados possam contribuir para o entendimento do tema despertando interesse para futuros estudos.

Conclusão

A microbiota vaginal predominante das mulheres do estudo é constituída pelos seguintes microrganismos: *Enterococcus sp*, *Staphylococcus coagulase negativo*, *Escherichia coli*, *Candida sp* e *Bacillus sp*. Houve alteração da microbiota vaginal com o uso das isoflavonas por via vaginal, para *Enterococcus sp* (tempo T0 vs T30, $p=0,03$) e *Bacillus sp* (tempo T0 vs T30, $p=0,01$). O pH vaginal sofreu redução estatisticamente significativa com o uso por 30 dias e 90 dias das isoflavonas por via vaginal, o que não ocorreu no grupo placebo. Por outro lado, não houve modificação estatisticamente significativa dos valores de FSH.

Ambos os grupos de estudo apresentaram melhora dos sintomas de atrofia urogenital. No grupo Isoflavonas houve melhora em todos os sintomas avaliados e, no Placebo, apenas a secura e prurido tiveram melhora após 90 dias do tratamento.

Assim, as isoflavonas por via vaginal aparentam ser alternativa importante para o tratamento de sintomas de atrofia genital em mulheres após a menopausa, incluindo as que apresentam contra-indicações para a terapia hormonal, resultando em pH vaginal próximo ao das mulheres na menacme, aumento de espécies acidófilas, incluindo as potencialmente patogênicas – sem causar infecção – e melhora da saúde urogenital.

Referências Bibliográficas

1. WHO (World Health Organization). Research on the menopause in the 1990s. Geneva: WHO; 1996. 106p. [WHO Technical Report Series n° 866].
2. Lustosa AB, Girão MJBC, Sartori MGF, Baracat EC, Lima GR.

- Citologia hormonal do trato urinário baixo e da vagina de mulheres na pós-menopausa antes e durante estrogênio-terapia oral e transdérmica. Rev Bras Ginecol Obstet. 2002; 24:573-7.
3. Amant DCS, Valentin-Bon IE, Jerse AE. Inhibition of Neisseria gonorrhoeae by Lactobacillus Species that are commonly isolated from the female genital tract. Infect Immun. 2002;70:7169-71.
4. Brazalo EM, Simões JA, Nader MEF, Tomás MSJ, Gregoracci GB, Marconi C. Prevalência e caracterização de espécies de lactobacilos vaginais em mulheres em idade reprodutiva sem vulvovaginites. Rev Bras Ginecol Obstet. 2009; 31:189-95.
5. Guyton AC, Hall JE. Fisiologia feminina antes da gravidez e hormônios femininos. In: Guyton AC, Hall JE. Tratado de fisiologia médica. 11ª. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2006. p. 1015-26.
6. Félix LMC, Lima SMRR, Campaner AB. Terapêutica não hormonal no tratamento de distúrbios do climatério. Femina. 2009; 37:543-6.
7. Girão MJBC, Sampaio DD, DiBella ZIJ, Sartori MGF, Lima GR, Baracat EC. Alterações urogenitais no climatério. Uroginecologia e cirurgia vaginal. 2007. [online]. Disponível em: <http://uroginecologia.com.br/index/?q=node/18>. [12 jul 2014].
8. Gonçalves AKS, Giraldo PC, Cornetta MCM, Amara LRL. Floras normal e patológica. In: Martins NV, Ribalta JCL. Patologia do trato genital inferior. São Paulo: Roca; 2005. p. 115-22.
9. Lima SMRR, Silva CR. Análise Crítica das evidências terapêuticas dos efeitos da *Glycine max*. In: Lima SMRR. Fitomedicamentos na prática ginecológica e obstétrica. São Paulo: Atheneu; 2006. p.176-84.
10. Lima SMRR, Botogoski SR. Conceitos. In: Lima SMRR, Botogoski SR. Menopausa, o que você precisa saber: abordagem prática e atual do período do climatério. São Paulo: Atheneu; 2009. p.3-7.
11. Molander U, Milsom I, Ekelund P, Mellstron D, Eriksson O. Effect of oral oestradiol on vaginal flora and cytology and urogenital symptoms in the post-menopause. Maturitas. 1990; 12:113-20.
12. Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, Lacroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, et al. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. JAMA. 2002; 228:321-33.
13. Silva CR. Avaliação da expressão dos receptores de estrogênio e K167 no endométrio e da citologia vaginal de ratos Wistar ooforectomizadas tratadas com *glycine max* e valerato de estradiol. Tese (Mestrado). São Paulo: Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo Médicas; 2008.
14. Tamura K, Kurimori HY, Lima SMRR, Yamada SS, Navarini A, Ueda SMY. Análise comparativa da microbiota vaginal de mulheres após a menopausa, assintomáticas, portadoras e não portadoras de Diabetes Mellitus. In: 18º Fórum de Iniciação Científica PIBIC/CNPq e Iniciação Científica, 2010, São Paulo. Anais. São Paulo: Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo; 2010.
15. Ulanowska K, Tkaczyk A, Konopa G, Wegrzyn G. Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DNA, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. Arch Microbiol. 2006; 184:271-8.
16. Wang H, Shi S, Li Y, Li H, Xie M. Study on anti-microbial activity of genistein and its mechanism. Acta Nutr Sin. [serial online] 2008; [cited 2014 13 July]. 4:403-6. Available from: http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-YYXX200804022.htm
17. Silva CR. Avaliação da expressão dos receptores de estrogênio e K167 no endométrio e da citologia vaginal de ratos Wistar ooforectomizadas tratadas com *Glycine max* e Valerato de estradiol. Tese (Mestrado). São Paulo: Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo Médicas; 2008.

18. Hong H, Laundauer MR, Foriska MA, Ledney GD. Antibacterial activity of the soy isoflavone genistein. *J Basic Microbiol*. 2006; 46:329-35.
19. Han KK, Soares Júnior JM, Haidar MA, Girão MJBC, Nunes MG, Lima GR, et al. Efeitos dos fitoestrogênios sobre alguns parâmetros clínicos e laboratoriais no climatério. *Rev. Bras Ginecol Obstet*. 2002; 24:547-52.
20. North American Menopause Society. *Menopause Core Curriculum Study Guide*. 3rded. Cleveland (Ohio): The North American Menopause Society; 2007.
21. NCCLS. *Clinical Laboratory Technical. Procedure Manuals. Approved guideline*. Wayne (PA): NCCLS; 2001.
22. Oplustil CP, Zoccoli CM, Tobouti NR, Sinto SI. Infecções genitais. In: Oplustil CP, Zoccoli CM, Tobouti NR, Sinto SI. *Procedimentos básicos em microbiologia clínica*. 2^a. ed. São Paulo: Sarvier; 2004. p.43-50.
23. Lima SMRR. Pharmaceutical compositions and uses thereof for the treatment and/or prevention of diseases caused by hypoestrogenism in the lower genital tract of women. 2012, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: WO2012145809, data de depósito: 10/04/2012, título: "Pharmaceutical compositions and uses thereof for the treatment and/or prevention of diseases caused by hypoestrogenism in the lower genital tract of women", Instituição de registro: Search International and National Patent Collections PATENTSCOPE
24. Lima SMRR, Yamada SS, Reis BF, Postigo S, Galvão da Silva MA, Aoki T. Effective treatment of vaginal atrophy with isoflavone vaginal gel. *Maturitas*. 2013; 74:252-8.
25. Le Donne M, Caruso C, Mancuso A, Costa G, Iemmo R, Pizzimenti G, et al. The effect of vaginally administered genistein in comparison with hyaluronic acid on atrophic epithelium in postmenopause. *Arch Gynecol Obstet*. 2011; 283:1319-23.
26. Tedeschi C, Benvenuti C, Research Group EG. Comparison of vaginal gel isoflavones versus no topical treatment in vaginal dystrophy: results of a preliminary prospective study. *Gynecol Endocrinol*. 2012; 28:652-4.
27. Weisberg E, Ayton R, Darling G, Farrell E, Murkies A, O'Neill S, et al. Endometrial and vaginal effects of low-dose estradiol delivered by vaginal ring or vaginal tablet. *Climacteric*. 2005; 8:83-92.
28. Freedman M, Kaunitz AM, Reape KZ, Hait H, Shu H. Twice-weekly synthetic conjugated vaginal cream for the treatment of vaginal atrophy. *Menopause*. 2009; 16:735-41.
29. Pitkin J, Rees MC, Gray S, Lumsden MA, Marsden J, Stevenson J, et al. Managing the menopause – British Menopause Society Council consensus statement on hormone replacement therapy. *J Br Menopause Soc*. 2003; 9:129-31.
30. Labrie F, Cusan L, Gomez JL, Côté I, Bérubé R, Bélanger R, et al. Effect of one week treatment with vaginal estrogen preparations on serum estrogen levels in postmenopausal women. *Menopause*. 2009; 16:30-6.
31. Semmens JP, Wagner G. Estrogen deprivation and vaginal function in post menopausal women. *J Am Med Assoc*. 1982; 248:445-8.
32. Roy S, Caillouette JC, Roy T, Faden JS. Vaginal pH is similar to follicle stimulating hormone for menopause diagnosis. *Am J Obstet Gynecol*. 2004; 190:1272-7.
33. Caillouette JC, Sharp CF Junior, Zimmerman GJ, Roy S. Vaginal pH as a marker for bacterial pathogens and menopausal status. *Am J Obstet Gynecol*. 1997; 76:1270-5.
34. Boskey ER, Telsch KM, Whaley KJ, Moench TR, Cone RA. Acid production by vaginal flora in vitro is consistent with the rate and extent of vaginal acidification. *Infect Immun*. 1999; 67:5170-5.
35. Burton JP, Reid G. Evaluation of the bacterial vaginal flora of 20 postmenopausal women by direct (Nugent score) and molecular (polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis) techniques. *J Infect Dis*. 2002; 186:1770-80.

Trabalho recebido: 12/08/2014

Trabalho aprovado: 22/09/2014