



VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

Facultad de Medicina y Odontología

Departamento de Medicina

Programa de Doctorado RD 99/2011

Junio 2020

TESIS DOCTORAL:

**ESTUDIO PILOTO DEL TRATAMIENTO DEL
LIQUEN ESCLEROSO VULVAR MEDIANTE TEJIDO
ADIPOSO ASOCIADO A PLASMA RICO EN
PLAQUETAS AUTÓLOGO.**

Tesis de Patricia Gutiérrez Ontalvilla

2020

Dirigida por:

Dr. Botella Estrada

Dra. Iborra Colomino

D. Rafael Botella Estrada Jefe de Servicio de Dermatología y Director del Área Médico-Quirúrgica de Enfermedades De La Piel Del Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia. Profesor Titular de Dermatología de la Universidad de Valencia.

Dña. Marisa Iborra Colomino Facultativa Especialista del Servicio de Digestivo del Hospital Universitario y politécnico La Fe de Valencia.

Directores, **CERTIFICAN:**

Que la presente tesis doctoral titulada **“Estudio piloto del tratamiento del liquen escleroso vulvar mediante tejido adiposo asociado a plasma rico en plaquetas autólogo”**, presentada por la Licenciada en Medicina y Cirugía **Dña. Patricia Gutiérrez Ontalvilla** para optar al grado de Doctor por la Universitat de València, está finalizada y lista para ser presentada y juzgada por el tribunal correspondiente.

Y para que así conste, firman la presente en Valencia a de Junio de 2020.

Fdo.: D. Rafael Botella Estrada
(Director)

Fdo.: Dña. Marisa Iborra Colomino
(Directora)

Esta Tesis Doctoral fue presentada por Patricia Gutiérrez Ontalvilla en Valencia en 2020 delante de un tribunal formado por:

Pilar Codoñer Franch (presidenta)
Rafael Martínez Sanz
Manuel Gómez Fleitas

Agradecimientos:

La realización de esta tesis ha sido mi particular viaje a Ítaca. Este pasaje de Cavafis lo ilustra a la perfección, es por ello que quiero agradecer a toda la gente que ha remado a mi lado durante este viaje.

*“Ten siempre a Ítaca en tu mente.
Llegar allí es tu destino.
Mas no apresures nunca el viaje.
Mejor que dure muchos años
y atracar, viejo ya, en la isla,
enriquecido de cuanto ganaste en el camino
sin aguantar a que Ítaca te enriquezca”.*

A Pepe, mi alter ego y mi casa.

A Begoña y a Ramiro que siempre han tenido los oídos, los brazos y las manos abiertas.

A mis abuelos Paco y Sina, que soñaron mis sueños y me enseñaron que una persona es su palabra.

A Marisa Iborra, una de las personas más honestas y decentes que conozco. Sin ella, sin su experiencia y sin su perfeccionismo, este trabajo hubiera sido...otra cosa.

A Rafael Botella por cederme sus consultas y sus pacientes para poder llevar a cabo esta investigación que le interesó desde que se la conté por primera vez allá por el 2017.

A Francisco Giner, mi anatomopatólogo, por su paciencia infinita a la hora de responder a mis preguntas y dudas, muchas veces básicas para él y una entelequia para mí.

A todas mis chicas del Instituto de Investigación La Fe: María Cortell, Laura Segura, Gemma Ramón, Diana Vicente, Cristina Serrano, Natividad Blasco, Patricia Sebastián, Elena Carrió, Mariana Reina, Mónica Valero... por su apoyo y aliento constante.

A Damián Negueroles, Pepe Cortell, Isabel Coronado y Leonor García que me regalaron su tiempo y sus manos para poder llevar a cabo mi sueño de ofrecer una alternativa válida de tratamiento a mis pacientes.

A la Dra. Chren autora de la escala de vida Skindex-29 quien me permitió usarla de forma altruista con solo mandarle un e-mail.

A los laboratorios Proteal©, a Patricia Ibáñez y Luis Vidal por haberme cedido su tecnología de forma altruista y haber confiado en esta investigación desde el comienzo.

A todas mis pacientes afectas de Liquen Escleroso Vulvar que confiaron incondicionalmente en mí y decidieron participar en este proyecto. Sin ellas no hubiese sido posible.

Gracias.

Índice

PARTE I

INTRODUCCIÓN 23

- 1.1. Definición e historia
- 1.2. Etiología
- 1.3. Incidencia
- 1.4. Manifestaciones clínicas
- 1.5. Hallazgos Histológicos
- 1.6. Diagnóstico Diferencial
- 1.7. Evaluación y seguimiento del LEV
 - 1.7.1. Sistema de puntuación clínica (CSS).
 - 1.7.2. Evaluación de la elasticidad.
 - 1.7.3. Evaluación del prurito (escala 5-D).
 - 1.7.4. Evaluación de la calidad de vida (escala Skindex-29).
 - 1.7.5. Evaluación de la función sexual (IFS Rosen)
- 1.8. Tratamiento actual
- 1.9. Justificación del estudio
- 1.10. Hipótesis

PARTE II

OBJETIVOS 43

- 2.1. Objetivo principal
- 2.2. Objetivos secundarios
 - 2.2.1. Evaluar la mejoría sintomática y de afectación macroscópica de las subunidades vulvares afectadas.
 - 2.2.2. Estudiar la mejoría de la elasticidad.
 - 2.2.3. Analizar la eficacia clínica en términos de mejoría del prurito.
 - 2.2.4. Examinar el impacto del tratamiento sobre la calidad de vida.
 - 2.2.5. Estimar la mejora en la función sexual.
 - 2.2.6. Evaluar los eventos adversos derivados del tratamiento.

PARTE III

METODOLOGÍA 45

- 3.1. Diseño del estudio
- 3.2. Población
 - 3.2.1 Criterios de inclusión
 - 3.2.2 Criterios de exclusión

- 3.2.3 Criterios de retirada
- 3.2.4. Definiciones
- 3.3. Método de reclutamiento y aleatorización
- 3.4. Consideraciones éticas y legales
- 3.5. Procedimiento de obtención de los tejidos
 - 3.5.1. Obtención del tejido graso autólogo.
 - 3.5.2. Obtención del plasma rico en plaquetas autólogo.
- 3.6. Procedimiento de administración del tratamiento
- 3.7. Procedimiento de toma de biopsias.
- 3.8. Criterios de evaluación y definiciones
 - 3.8.1. Valoración de los cambios anatomopatológicos
 - 3.8.2. Medida de la afectación sintomática y macroscópica (**Anexo 1**)
 - 3.8.3. Medida de la elasticidad
 - 3.8.4. Medida del Prurito (**Anexo 2**)
 - 3.8.5. Medida de la calidad de vida mediante la escala Skindex-29 (**Anexo 3**).
 - 3.8.6. Medida de la función sexual (**Anexo 4**)
- 3.9. Calendario de visitas y procedimientos.
 - 3.9.1. Visita 0 (Selección)
 - 3.9.2. Visita 1 (Basal)
 - 3.9.3. Visita 2 (Pre-anestésica)
 - 3.9.4. Visita 3 (1ª sesión infiltración tratamiento)
 - 3.9.5. Visita 4 (1 mes post tratamiento/ post V1)
 - 3.9.6. Visita 5 (2ª sesión infiltración tratamiento)
 - 3.9.7. Visita 6 (6 meses post 1ertratamiento/ post V1)
(3 meses post 2º tratamiento)
 - 3.9.8. Visita 7 (12 meses post 1ertratamiento/ post V1)
(6 meses post 2º tratamiento)
- 3.10. Análisis estadístico.

PARTE IV.

RESULTADOS 79

- 4.1. Características de las pacientes.
- 4.2. Datos de anatomía patológica.
- 4.3. Datos de síntomas y afectación macroscópica.
- 4.4. Datos sobre la elasticidad.
- 4.5. Datos de prurito mediante escala 5D.
- 4.6. Datos de calidad de vida mediante escala skindex-29.
- 4.7. Datos de la función sexual.
- 4.8. Datos de los eventos adversos derivados del tratamiento.

PARTE V.	
DISCUSIÓN	104
PARTE VI.	
CONCLUSIONES	116
PARTE VII.	
BIBLIOGRAFÍA	118
PARTE VIII.	
DOCUMENTOS ADJUNTOS	126
8.1. ANEXO 1: Valoración sintomática y macroscópica.	
8.2. ANEXO 2: Escala 5D Prurito.	
8.3. ANEXO 3: Escala Skindex-29 versión española.	
8.4. ANEXO 4: Índice de función sexual de Rosen (IFS).	
8.5. ANEXO 5: Hoja de instrucciones postquirúrgicas para el paciente del grupo Tratamiento.	
8.6. ANEXO 6: Checklist anamnesis visita 1.	
8.7. ANEXO 7: Hoja de información al paciente.	
8.8. ANEXO 8: Consentimiento informado.	
8.9. ANEXO 9: Consentimiento de toma de fotografías.	

Lista de abreviaturas.

AA/RA	Acontecimiento adverso/Reacción adversa
AAG	Acontecimiento adverso grave
Ac.	Anticuerpo
AF	Antecedentes familiares
AINE	Antiinflamatorio no esteroideo
ANA	Anticuerpos antinucleares
ANCA	Anticuerpos anti citoplasma de neutrófilo
BPC	Buenas Prácticas Clínicas
CC	Centímetros cúbicos
CEIm	Comité de Ética de la Investigación con medicamentos
CSS	Clinical Score System
DE	Desviación estandar
DM	Diabetes mellitus
Dº	Diagnóstico
E.	Enfermedad
EGF	Factor de crecimiento endotelial
EII	Enfermedad inflamatoria intestinal
ETS	Enfermedad de transmisión sexual
FC	Factores de crecimiento
FGF	Factor de crecimiento de fibroblastos
G	Gauge
HGF	(Factor de crecimiento hepatocítico),
HLA	Antígeno Leucocitario humano
ICH	Normas internacionales de Armonización
IFN	Interferón
IL	Interleuquina
LE	Liquen escleroso
LEV	Liquen escleroso vulvar
LL	Luer-Lock

ml	mililitros
PCA	Análisis componentes principales
PCR	Proteína C reactiva
PDGF	Factor de crecimiento derivado de plaquetas
PPP	Plasma pobre en plaquetas
PRP	Plasma rico en plaquetas
QGF	Factor de crecimiento de queratinocitos
RA	Reacción adversa
RAG	Reacción adversa grave
RAGI	Reacción adversa grave inesperada
RAI	Reacción Adversa Inesperada
RAM	Reacción adversa medicamentosa
RFA	Reactantes de fase aguda
RL	Ringer Lactato
SUSAR	Reacción adversa grave inesperada sospechada
TGFb	Factor de crecimiento transformante Beta
TNF	Factor de necrosis tumoral
Tto	Tratamiento
Tto.	Tratamiento
UCSI	Unidad de cirugía sin ingreso
VGF	Factor de crecimiento vascular
VHB	Virus hepatitis B
VHC	Virus hepatitis C
VHS-II	Virus herpes simple tipo 2
VIH	Virus inmunodeficiencia humana
VPH	Virus del Papiloma Humano
VSG	Velocidad de sedimentación globular

Listado de Figuras.

Fig. 1. LE extragenital.

Fig. 2A. Vulva en paciente con LEV.

Fig. 2B. Vulva sin patología.

Fig. 3A. Epidermis atrófica con esclerosis subepitelial e infiltrado linfoplas-macitario en banda con presencia de exocitosis aislada linfocitario con daño de células de la capa basal en LEV.

Fig. 3B. Epidermis atrófica con ligera hiperortoqueratosis asociada a leve esclerosis subepitelial e infiltrado linfoplasmacitario en banda y difuso con presencia de exocitosis linfocitaria, daño de células de la capa basal y presencia de melanófagos subepiteliales.

Fig. 4. Fase inicial de la deformación de la piel ante un estímulo mecánico de succión producido por el Cutometer-dual-mpa®.

Fig. 5. Liposucción manual.

Fig. 6. Duografter II®.

Fig. 7. Sistema Push-out.

Fig. 8. A. y B. Productos obtenidos tras centrifugación del tejido adiposo.

Fig. 9. Componentes kit Lipopras® para purificación tejido adiposo.

Fig. 10. Emulsificador Tulip®.

Fig. 11 A. Kit extracción.

Fig. 11 B. Kit de procesamiento.

Fig. 11 C. Kit anticoagulante / activador.

Fig. 11 D. Mezcla de sangre periférica con citrato sódico 3.13%.

Fig. 11 E. Llenado del tubo para centrifugación.

Fig. 11 F. Fracciones tras centrifugación de sangre anticoagulada.

Fig. 11 G. PRP inactivo.

Fig. 11 H. Activación PRP.

Fig. 12. Mezcla resultante.

Fig. 13. Infiltración de la mezcla en plano intra y subdérmico de la zona vulvar.

Fig. 14. Cutometer-dual-mpa®.

Fig. 15. Sonda Cutometer-dual-mpa®.

Fig. 16. Solución y el cepillo para desinfección sonda.

Fig. 17 A. Curvas medición elasticidad con el Cutometer-dual-mpa®.

Fig. 17 B. Parámetros medición en paciente con LEV.

Fig. 18. Significado de los parámetros de mayor relevancia medición con el Cutometer-dual-mpa®.

Fig. 19. Linfocitos T, Eosinófilos, mastocitos, y linfocitos perivasculares.

Fig. 20. Exocitosis.

Fig. 21. Marcadores crónicos de lesión.

Fig. 22 A. y B. Afectación sintomática y macroscópica.

Fig. 23 A, B, C y D: Dolor, prurito, quemazón y dispareunia.

Fig. 23 E, F: Erosiones y fisuras.

Fig. 23 G, H, I, J: Hiperqueratosis, aglutinación, estenosis, atrofia.

Fig. 24 A. Paciente 1 Aspecto macroscópico tras dos infiltraciones de tejido graso autólogo y PRP.

Fig. 24 B. Paciente 2 Aspecto macroscópico tras dos infiltraciones de tejido graso autólogo y PRP.

Fig. 24 C. Paciente 3 Aspecto macroscópico tras dos infiltraciones de tejido graso autólogo y PRP.

Fig. 25 A. Paciente 1. Aspecto macroscópico paciente control. 1 año de evolución.

Fig. 25 B. Paciente 2. Aspecto macroscópico paciente control. 1 año de evolución.

Fig. 25 C. Paciente 3. Aspecto macroscópico paciente control. 1 año de evolución.

Fig. 26. Gráfico representando las medias e intervalos de confianza al 95% de las variables medidas mediante el Cutometer-dual-mpa® a lo largo de las visitas.

Fig. 27. Prurito: Gráfico representando las medias e intervalos de confianza al 95% de los datos de 5D prurito a lo largo de las visitas.

Fig. 28. Gráfico representando las medias e intervalos de confianza al 95% de los datos de SKINDEX-29 a lo largo de las visitas.

Fig. 29 A, B, C. Dominio sintomático, emocional y funcional Skindex-29.

Fig. 30. Variabilidad Skindex-29.

Fig. 31. IFS: Gráfico representando las medias e intervalos de confianza al 95% de los datos de IFS a lo largo de las visitas.

Fig. 32. Variabilidad IFS.

Fig. 33. IFS en LIQ 02 y LIQ 15. Pacientes del grupo tratamiento que se comportan como pacientes del grupo control.

Fig. 34. IFS desglosado por dominios.

Listado de Tablas

Tabla 1. Diagnóstico diferencial LE.

Tabla 2. Composición del PRP.

Tabla 3A. Calendario de visitas de las pacientes del grupo control.

Tabla 3B. Calendario de visitas de las pacientes del grupo tratamiento.

Tabla 4A. Síntomas LEV escala CSS.

Tabla 4B. Signos LEV escala CSS.

Tabla 5. Cuestionario Skindex-29.

Tabla 6. Corrección del índice de función sexual.

PARTE I

INTRODUCCIÓN

1.1. Definición e Historia

El Liquen escleroso (LE) es una enfermedad inflamatoria crónica de etiología desconocida que afecta fundamentalmente a la piel genital. Se caracteriza por la presencia de pápulas o placas blancas atróficas y afecta de forma fundamental a las mujeres posmenopáusicas. La prevalencia en la población general se estima en 1 de cada 300-1.000 individuos. Aunque pueden existir lesiones extragenitales hasta en un 15-20%, la mayoría aparecen en la zona anogenital¹.

El LE fue descrito por primera vez en 1887 por Francois Henri Hallopeau². Sin embargo, fue en el 1892 cuando se describieron los típicos cambios histopatológicos por Ferdinand Jean Darier. Posteriormente, Unna, Westberg y von Zumbusch enumeraron las características clínicas del LE en varios casos clínicos lo cual contribuyó al acuñamiento de varios términos para definir el trastorno como enfermedad de las manchas blancas, liquen blanco, kraurosis vulvar, balanitis xerótica obliterans, etc. Esto ha complicado bastante la búsqueda bibliográfica.

Hoy en día, se usa el término de LE, propuesto por la sociedad internacional para el estudio de la enfermedad vulvar (ISSVD International Society for the Study of Vulvo vaginal Disease) y es el más frecuentemente usado³.

1.2. Etiología

Aunque la etiología exacta del LE es desconocida, se considera una enfermedad de origen multifactorial en la que actuarían factores inmunológicos y ambientales sobre pacientes genéticamente predispuestos.

Cada vez se aboga más por el mecanismo autoinmune como inductor de las lesiones basado en su asociación con otras enfermedades de este tipo hasta en un 21-28% de los casos. Se ha asociado fundamentalmente a la tiroiditis de Hashimoto, la alopecia Areata, el vitíligo y la anemia perniciosa⁴⁻⁹. Además, la presencia de anticuerpos circulantes antiproteína 1 de la matriz extracelular (ECM-1) hasta en el 80 % de estos pacientes apoya dicha teoría (anticuerpos IgG anti ECM-1)¹⁰. Se ha sugerido que la matriz extracelular podría actuar como autoantígeno y provocar el inicio de las lesiones mediado por células T⁶.

Como en la mayoría de las enfermedades autoinmunes, la predisposición genética contribuye al desarrollo de la enfermedad, lo cual se pone de manifiesto en

estudios realizados con gemelos monocigóticos^{11,12}. Además, se ha observado una asociación con el antígeno MHC (Complejo Mayor de Histocompatibilidad) clase II HLA-DQ7¹³. La existencia de susceptibilidad genética para la esclerosis dentro del MHC se subraya por los hallazgos en la misma región de un mayor riesgo de enfermedades autoinmunes.

Entre los factores ambientales cabe destacar el posible papel del estrés oxidativo en la patogenia del LE^{14,15}. La influencia de este mecanismo se basa en un análisis de la piel lesionada que mostró una peroxidación de los lípidos de las células epidérmicas de la capa basal con daño oxidativo del DNA y de las proteínas, aunque se desconoce si este factor es causa o consecuencia de la propia enfermedad. Por otro lado, se han demostrado alteraciones en el gen p53 en pacientes con LE vulvar y un mayor daño oxidativo tisular secundario a una alteración funcional enzimática antioxidante, lo que explicaría un mayor riesgo oncogénico.¹⁶

El LE y el abuso sexual pueden coexistir pudiendo actuar el abuso sexual como un gatillo o punto de partida para el inicio de un LE como fenómeno de Koebner^{17,18}

1.3. Incidencia

La incidencia de LEV es desconocida y probablemente infra-estimada debido a que inicialmente puede ser asintomática y esquiva en el diagnóstico. La prevalencia en mujeres adultas es de un 3% aproximadamente¹⁹. Estudios prospectivos y retrospectivos en adultos sugieren que el LE es una de las causas más frecuentes de enfermedad vulvar sintomática. Las mujeres se afectan más que los hombres con una ratio de 6:1. La presentación genital en mujeres tiene dos picos de edad de presentación, prepuberal y postmenopáusica, pero hay muchos casos descritos a lo largo de la vida reproductiva de la mujer²⁰. Dos tercios de los casos infantiles experimentan mejoría o curación al llegar la menarquía, mientras que las formas del adulto tienden a hacerse crónicas, con fases de exacerbación y remisión, pudiendo progresar a un carcinoma espinocelular²¹⁻²⁷.

1.4. Manifestaciones clínicas

El LE afecta fundamentalmente a la zona anogenital, sin embargo, puede afectar también a la piel extragenital. Se han descrito casos de presentación siguiendo las líneas de Blaschko²⁸. Tiene predilección por la zona cervical, hombros, superficies flexoras de muñecas y zonas sometidas a presión constante como pueden ser las caderas o los hombros. El LE extragenital normalmente no produce síntomas salvo la sequedad y el prurito asociado.



Fig. 1. LE extragenital

La afectación de la cavidad oral, palmas o plantas es rara. En la boca, pueden aparecer pápulas blanco-azuladas de 5 mm de diámetro en la mucosa yugal o debajo de la lengua que pueden desembocar en erosiones o zonas de atrofia cicatricial.

En fases iniciales las lesiones suelen ser poligonales, blanco-azuladas, brillantes y ligeramente sobreelevadas en forma

de pápulas interfoliculares. Con el paso del tiempo estas pápulas confluyen o aumentan de tamaño. La mayoría de los pacientes presentan pápulas de color marfil, brillantes o con superficie arrugada de aspecto cicatricial. A veces, las lesiones pueden adquirir una tonalidad rosada o violeta claro y en las zonas de roce, pueden adquirir un aspecto de parche. En estadios más avanzados, se pueden ver telangiectasias junto con un aplanamiento de la interfaz entre la epidermis y la dermis lo que resulta en una fragilidad de la unión dermoepidérmica que puede llegar a traducirse en la formación de ampollas hemorrágicas²⁹.

En mujeres la afectación más frecuente es la zona vulvar y perianal en forma de ocho. El picor es el síntoma principal, aunque el dolor también es común debido a las erosiones y fisuras. El prurito frecuentemente empeora por la noche y en ocasiones puede producir alteraciones del sueño. La dispareunia sucede con las erosiones, fisuras y el estrechamiento del introito. Estos síntomas pueden producir disuria y dolor durante la defecación. Las lesiones típicas son pápulas o placas de color blanco porcelana asociadas frecuentemente a zonas de equimosis. El LE comienza frecuentemente como un área delimitada ligeramente elevada, eritematosa con facilidad para erosionarse. Con el paso del tiempo, la piel se vuelve brillante, hipopigmentada y esclerótica, pudiendo fisurarse. La reacción cicatricial asociada puede producir fusión y reabsorción de labios mayores, menores y enterramiento del clítoris. La combinación de erosiones y sangrado puede llevar al diagnóstico erróneo de abuso sexual por lo que es esencial un cuidadoso examen físico apoyado en la mayoría de los casos con un diagnóstico histológico³⁰.

Los signos más precoces del LEV suelen ser la aparición de placas blanquecinas. Más tarde aparecen las flictenas hemorrágicas que es un signo característico del LEV. A medida que la enfermedad evoluciona se produce una fusión de labios menores y mayores, una fimosis del clítoris y un estrechamiento del introito.

La vagina y el cérvix quedan preservados a menos que haya un prolapso vaginal y la mucosa se queratinice y pueda desarrollar la enfermedad^{31,32}. Las lesiones



Fig. 2A. Vulva en paciente con LEV



Fig. 2B. Vulva sin patología

perianales ocurren en el 30% de las mujeres pudiendo extenderse a los pliegues inguinales y glúteos.

La mayoría de los datos sugieren que el LE no es precanceroso de forma intrínseca, pero el hecho de que esté considerado como una entidad con inflamación crónica en un entorno húmedo puede promover la carcinogénesis³. El riesgo de malignización es de aproximadamente 3.5%-5%²³. Sin embargo, el análisis patológico del carcinoma escamoso vulvar indica que aproximadamente el 60% ocurre en un entorno de LE^{23,24}. El LE parece actuar tanto como iniciador y promotor de la carcinogénesis por mecanismos independientes del VPH. Sin embargo, es frecuente encontrar VPH en neoplasias intraepiteliales (VIN) asociadas con LE³³. La mayoría de los pacientes que sufrieron cáncer (carcinoma de células escamosas) en la zona habían recibido radioterapia o infección previa por el virus del papiloma humano en el caso de las pacientes jóvenes (VPH 16 y VPH18). La recurrencia local de carcinoma vulvar de células escamosas es mayor en pacientes con LE.

1.5 Hallazgos Histológicos.

La histología convencional muestra hiperqueratosis ortoqueratósica en la epidermis, atrofia, degeneración hidrópica de las células basales, hendiduras dermoepidérmicas y ocasionales tapones córneos ortoqueratósicos de los orificios foliculares y ecrinos en las lesiones cutáneas³⁴. En dermis papilar aparece edema y homogenización del colágeno, adoptando un aspecto en vidrio esmerilado. Se aprecia un infiltrado focal perivascular o en banda de células mononucleares y

células plasmáticas, que separa la dermis papilar edematosa de la dermis reticular, junto a capilares dilatados. En casos avanzados la piel adquiere el aspecto de un proceso cicatricial inespecífico. Estas lesiones histológicas del liquen escleroso pueden asociarse a cambios de liquen plano o morfea³⁵.

El estudio inmunohistoquímico con anticuerpos policlonales para colágeno I y III, y un anticuerpo monoclonal para elastina demuestra una anómala distribución de éstos, que contribuye a la fragilidad y atrofia clínicamente evidentes³⁶

Inicialmente se produce un edema dérmico superficial asociado a un infiltrado linfocítico “band-like”. La epidermis se adelgaza junto con una ortohiperqueratosis y degeneración vacuolar de la capa basal. Durante las fases tempranas el infiltrado inflamatorio a lo largo de la zona de hialinización corre a cargo de linfocitos CD3+, CD4+ y CD8+, macrófagos, eosinófilos y mastocitos.

En las lesiones antiguas, el infiltrado mononuclear es escaso y disperso en islas dentro de la dermis hialinizada además de un acortamiento de las fibras de colágeno y pérdida de fibras elásticas. También se ha observado en estos estadios avanzados fisuras y hemorragias dentro de la dermis papilar. Los marcadores de lesión epidérmicos crónicos tanto directos como indirectos son: paraqueratosis, hiperqueratosis, cuerpos apoptóticos, melanófagos, hipergranulosis, acantosis, atrofia epidérmica y fibrosis subepitelial.

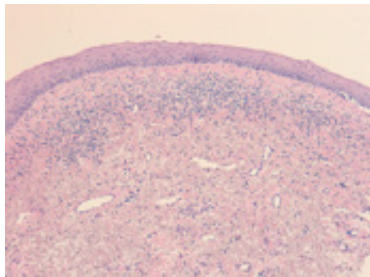


Fig. 3A Se observa una epidermis atrófica con esclerosis subepitelial e infiltrado linfoplasmatario en banda con presencia de exocitosis aislada linfocitario con daño de células de la capa basal. Cortesía del Dr. Francisco Giner.

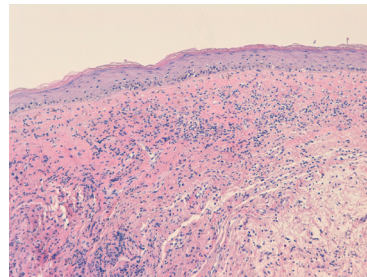


Fig. 3B. Se observa una epidermis atrófica con ligera hiperortoqueratosis asociada a leve esclerosis subepitelial e infiltrado linfoplasmatario en banda y difuso, con presencia de exocitosis, daño de células de la capa basal y presencia de melanófagos subepiteliales. Cortesía del Dr. Francisco Giner.

1.6. Diagnóstico Diferencial

El diagnóstico diferencial para el LE extragenital debe hacerse con la morfea y cuando hay afectación genital en niños, debemos descartar abuso sexual¹⁸. En adultos el LE genital puede imitar el liquen plano erosivo. En ocasiones, el diag-

nóstico diferencial es sumamente difícil y existen casos en los que el LE y el liquen plano erosivo vulvar se solapan originando el que algunos autores denominan “síndrome de solapamiento LE y LP de mucosas”. Sin embargo, el LE presenta en general una buena respuesta al tratamiento con corticoides tópicos de alta potencia y es rara la afectación vaginal ^{31,32}.

Por otra parte, hay un diagnóstico diferencial muy importante que hay que comentar en el texto, además de incluirlo en la tabla, que es el liquen simple crónico. El liquen simple crónico es consecuencia del rascado continuo, y tanto las alteraciones clínicas como las histológicas que aparecen derivan de esto. Las pacientes con liquen escleroatrófico tienen prurito, y en ocasiones no es fácil diferenciar clínicamente ambas entidades, de manera que se precisa una biopsia para establecer el diagnóstico correcto.

Las biopsias son muy útiles para establecer el diagnóstico diferencial junto con un exhaustivo examen físico. En este sentido, las biopsias pueden ser esenciales para excluir una malignización sobre todo cuando hay una infección por VPH fenotipos 16 y 18 los cuales son potencialmente carcinogénicos. Cabe resaltar, que la esclerosis de la dermis papilar es la única característica patológica que discrimina claramente el LE del liquen plano. A continuación, presentamos la tabla con el diagnóstico diferencial del LEV (Tabla 1.)

Tabla 1. Diagnóstico diferencial LE.

Enfermedad	Síntomas y localización	Macroscopía	Histología
Neoplasia Vulvar Intraepitelial (VIN) de tipo diferenciado			Epidermis acantósica, atipias citológicas leves-severas con mitosis atípicas.
Liquen Plano erosivo vulvar	Suele afectar a la vagina (sinequias) y otras mucosas: boca esófago, vejiga, conjuntiva... Dolor y ardor Flujo maloliente, purulento	Erosiones rojo brillantes	Crestas epidérmicas en dientes de sierra (hiperplasia epidérmica psoriasisiforme).
Liquen Plano			No esclerosis dermis papilar.

Enfermedad	Síntomas y localización	Macroscopía	Histología
Liquen simple crónico	Se caracteriza por una reacción cutánea ante una agresión crónica y cuyo síntoma principal es el prurito vulvar.	Hiperpigmentación Áreas escamosas	Acantosis psoriasiforme con espongiosis y paraqueratosis. Fibrosis interpapilar con fibras de colágeno dispuestas verticalmente y escaso infiltrado linfocitario perivascular
Psoriasis		Placas eritematosas y eritemato-escamosas	Papilomatosis con paraqueratosis e infiltrado neutrofilico intraepidérmico con microabscesos de Munro.
Penfigoide mucomembranoso			Despegamiento subepidérmico de epidermis con formación ampollosa y depósitos de inmunoglobulinas en la membrana basal
Vitíligo	Asintomático	Máculas acrómicas sin atrofia o esclerosis	Pérdida completa de melanocitos y melanina en toda la capa basal. Puede tener en fases iniciales infiltrado inflamatorio en la unión dermoepidérmica.
Deficiencia estrogénica	Dispareunia que mejora con tratamiento tópico estrogénico.		Ausencia de infiltrado linfocitario en banda con escaso fenómeno de hialinización dérmica.
Morfea			Esclerosis dérmica con fibras de colágeno gruesas que envuelven por completo la dermis reticular. No engrosamiento de la membrana basal o vacuolización de la capa basal. Infiltrado inflamatorio de células plasmáticas perineural y periecrino. Fibras elásticas conservadas.

1.7. Evaluación y seguimiento del LEV

1.7.1. Sistema de puntuación clínica para el LEV.

El dolor es la causa más frecuente de consulta médica. La Asociación Internacional para el Estudio del Dolor define el dolor como *“una experiencia sensitiva y emocional desagradable, asociada a una lesión tisular real o potencial”*. La percepción del dolor consta de un sistema neuronal sensitivo (nociceptores) y unas vías nerviosas aferentes que responden a estímulos nociceptivos tisulares; la nocicepción puede estar influida por otros factores (p.ej. psicológicos).

El prurito se define como una sensación no placentera que induce el deseo de rascarse; éste es provocado por mediadores químicos y estímulos sobre los receptores neuronales. Entender su fisiopatología es esencial debido al alto impacto que tiene sobre la calidad de vida de los pacientes, además de que puede ser el único síntoma de algunas enfermedades cutáneas y sistémicas.

La quemazón en pacientes con LEV, se define como una sensación de ardor en la mucosa vulvar.

La dispareunia es el dolor recurrente o persistente que aparece durante las relaciones sexuales y que puede alterar en gran medida la salud, relaciones sociales y calidad de vida de las pacientes.

Existe un sistema de puntuación clínica validada (CSS) para el LEV, desarrollado en conjunto en el hospital universitario de Berna y en la universidad de Berna^{37,38}. Esta escala no solo es útil en el diagnóstico del LEV sino también para valorar la respuesta al tratamiento y establece el diagnóstico de LEV en pacientes sintomáticos, con un punto de corte de 4 en el apartado de signos. Según los autores, este diagnóstico debe ser contrastado con una biopsia. También es útil para valorar la progresión de la enfermedad y como pauta general de seguimiento de las pacientes afectadas de LEV.

Dicho sistema tiene, por una parte, un apartado sintomático compuesto de cuatro ítems: prurito, quemazón, dolor y dispareunia. Los pacientes puntúan en cada visita cada ítem en una escala de 0 (no síntoma) a 10 (máxima intensidad), con un mínimo de 0 y un máximo de 40.

Por otra parte, en la puntuación correspondiente a los signos físicos se consideraron los siguientes: erosiones, hiperqueratosis, fisuras, reabsorción, estenosis y atrofia. Cada ítem se puntúa en una escala de tres puntos tipo Likert de 0 a 2 donde 0 corresponde a un aspecto normal, 1 afectación moderada y 2 afectación grave. La puntuación de esta parte de signos físicos varía por tanto de 0 a 12.

Las erosiones grado 1 vienen definidas por la existencia de 1-2 pequeñas erosiones casi invisibles macroscópicamente, mientras que las erosiones grado 2 son aquellas en las que hay más de 2, confluentes o macroscópicamente visibles.

La hiperqueratosis grado 1 afecta hasta un 10% a la vulva y perineo mientras que en la de grado 2, la afectación es mayor del 10%.

Las fisuras grado 1 afectan a la parte posterior del introito mientras que las de grado 2 son generalizadas.

La aglutinación o reabsorción si es de grado 1 afectaba de forma parcial al prepucio clitoriano y a los labios menores y si se clasifica de grado 2, la afectación es total.

La estenosis grado 1 viene definida por la posibilidad de que pasen a través del introito 2 dedos y la de grado 2 por menos de dos dedos.

La atrofia grado 1 se corresponde con la atrofia de clítoris y de labios menores mientras que el grado 2 viene definido por la invisibilidad de clítoris y de labios menores.

La mejoría sintomática viene definida por un descenso en la puntuación de la escala lineal de 0 a 10 para cada ítem (prurito, dolor, quemazón y dispareunia) mientras que la estructural viene definida por una recuperación total o parcial arquitectural de las subunidades vulvares afectadas.

1.7.2. Evaluación de la elasticidad

La elasticidad viene definida como la propiedad de un cuerpo sólido para recuperar su forma cuando cesa la fuerza que la altera. Las pacientes afectadas de LEV sufren una esclerosis localizada que disminuye la elasticidad de las zonas afectadas. En este estudio la elasticidad se midió mediante el analizador de piel para investigación Cutometer-dual-mpa®. El principio de medición se basa en el método de succión (Fig. 4). Con dicho método, la sonda crea una presión negativa y la piel es arrastrada hasta la apertura de la sonda. Se mide la profundidad de penetración mediante un sistema de medición óptica sin contacto, consistente en una fuente de luz, un receptor y dos prismas, que proyectan luz desde el emisor hasta el receptor.

La medición con el Cutometer-dual-mpa® se utiliza como estándar en dermatología y cosmetología para la investigación y el diagnóstico clínico, por ejemplo, en la medición de cicatrices y también en aplicaciones especiales, como en este estudio³⁹.

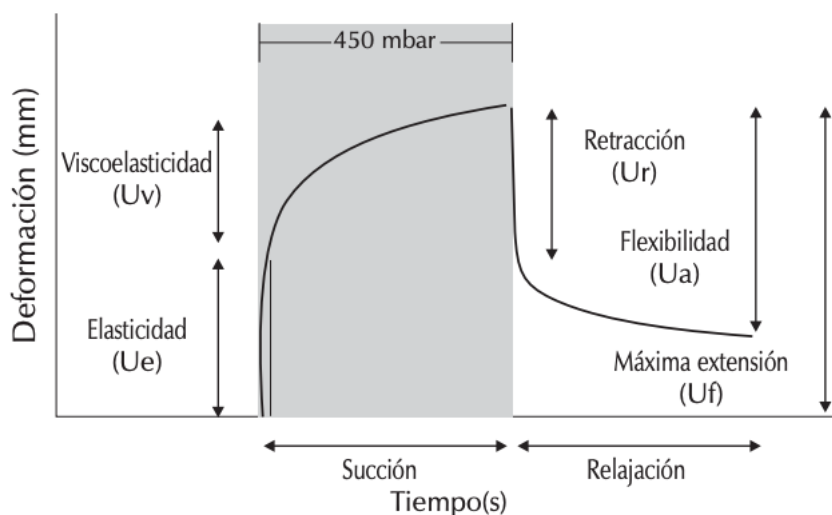


Fig. 4. Fase inicial de la deformación de la piel ante un estímulo mecánico de succión producido por el Cutometer-dual-mpa®

El Cutometer-dual-mpa® es un instrumento que se diseñó originalmente para evaluar la elasticidad de la piel sana. Dicho aparato se ha usado de forma fiable para medir la elasticidad en las lesiones de esclerodermia, pero la información que ofrece sobre el comportamiento de la elasticidad en cicatrices es escasa.⁴⁰

Cuando las mediciones son realizadas por el mismo investigador, los coeficientes de correlación intraclase de elasticidad y extensión máxima son aceptables ($r=0,76$ y $r=0,74$ respectivamente)⁴¹.

Los resultados evaluaron la capacidad de la piel vulvar para volver a su posición original (elasticidad) y la resistencia de la piel a ser succionada (firmeza).

1.7.3. Evaluación del prurito.

El picor es una experiencia subjetiva y multidimensional difícil de cuantificar⁴².

En el sistema de puntuación clínica que hemos utilizado, el prurito se evalúa en una escala de 0 a 10 en cada visita. La mayoría de los métodos para medir el prurito suelen ser unidimensionales (por ejemplo, solo miden la intensidad sin el impacto en la calidad de vida). De éstos, ninguno ha demostrado la capacidad de detectar el cambio a lo largo del tiempo lo cual es esencial para medir el efecto tras una determinada acción. Es por ello que decidimos ahondar en el estudio de este síntoma utilizando la escala de la evaluación del prurito en 5 dimensiones. La escala 5-D fue desarrollada como un cuestionario breve, multidimensional y útil para ensayos clínicos⁴³. Las cinco dimensiones son: grado, duración, dirección, incapacidad y distribución. Las puntuaciones de cada uno de los cinco dominios

se obtienen por separado y luego se suman para obtener la puntuación final la cual varía entre 5 (no prurito) y 25 (máximo prurito). Esta escala ha demostrado facilidad en el uso, validez de contenido, confianza test-retest, consistencia interna y habilidad para detectar el cambio en el picor a lo largo del tiempo en pacientes con prurito crónico de diferentes etiologías: cutáneo, hepático, renal, pacientes con VIH y quemados. Se correlaciona con fuerza con la escala visual analógica a nivel basal ($r=0,727$) ($P<0,0001$) y a las 6 semanas de seguimiento ($r=0,892$) ($P<0,0001$).

1.7.4. Evaluación de la calidad de vida.

Según la OMS, la calidad de vida es la percepción que un individuo tiene de su lugar en la existencia, en el contexto de la cultura y del sistema de valores en los que vive y en relación con sus objetivos, sus expectativas, sus normas y sus inquietudes.

La mayoría de las escalas dermatológicas sobre calidad de vida fueron creadas originalmente en inglés y debían ser traducidas para adaptar su uso en otras culturas. El instrumento original se componía de 61 ítems y fue sometido a un proceso explícito de análisis de ítems y de reducción hasta obtener una versión reducida de 29 apartados con unas capacidades de medición mejoradas⁴⁴. La generación de novo de un test es un proceso que consume mucho tiempo y recursos. Debido a ello, Jones-caballero y colaboradores desarrollaron una traducción semántica equivalente de la escala Skindex-29 al castellano, que, aunque no es un proceso sencillo, permite obtener medidas estándar utilizables en estudios interculturales^{45,46}. El cuestionario Skindex-29 es ágil, siendo 5 minutos el tiempo medio que un paciente requiere para completarlo.

Se centra en tres dimensiones: funcional (12 ítems), emocional (10 ítems) y sintomática (7 ítems).

1. El funcional con 12 ítems (vida social, aislamiento, sexualidad, trabajo, aficiones)
2. La dimensión emocional de 10 ítems (vergüenza, molestia, depresión, frustración)
3. La dimensión sintomática con 7 ítems (picor, dolor, irritación).

Cada ítem tiene una escala de respuesta tipo Likert con 5 posibles opciones (0=nunca, 1 = raramente, 2 = a veces, 3 = a menudo, 4 = todo el tiempo). La puntuación de cada dimensión se obtiene transformando la suma de las respuestas

en una escala lineal de 100 que varía desde 0 (ausencia de impacto en la calidad de vida relacionada con la salud) hasta 100 (impacto máximo en la calidad de vida relacionada con la salud). Se obtiene una puntuación global mediante la misma transformación. La versión española del cuestionario Skindex-29 presenta un alto grado de validez de construcción, consistencia interna (Cronbach 0,84, reproducibilidad, sensibilidad al cambio, interpretabilidad, factibilidad y valores de correlación intraclase en el test-retest > 0,70. Al ser un test dermatológico general, su uso se permite en todo tipo de afectación cutánea.

El motivo de usar este cuestionario frente al DLQI (Dermatology Life Quality Index) es que este último solo se ha aplicado a pacientes con enfermedades inflamatorias y ha presentado un efecto suelo sustancial y falta de sensibilidad al cambio.

1.7.5. Evaluación función sexual.

La salud sexual es un estado de bienestar físico, mental y social en relación con la sexualidad. Requiere un enfoque positivo y respetuoso de la sexualidad y de las relaciones sexuales, así como la posibilidad de tener experiencias sexuales placenteras y seguras, libres de toda coacción, discriminación y violencia.

El LEV afecta negativamente a la función sexual. La piel es delicada y se producen fisuras fácilmente, lo cual causa dispareunia. El miedo al dolor, afecta a la excitación, disminuye la lubricación y provoca contracturas de los músculos pélvicos. Además, se producen cambios anatómicos como fimosis clitoriana, fusión de labios mayores y menores y una estenosis del introito lo cual contribuye a que las relaciones sexuales sean dolorosas y haya problemas para alcanzar el orgasmo.

La medida de la función sexual de Rosen es un instrumento sencillo, breve y multidimensional para la evaluación de la sexualidad en pacientes con trastornos vulvares, incluyendo el LEV⁴⁷. Fue diseñado y validado para la evaluación de la función sexual y de calidad de vida en ensayos clínicos y estudios epidemiológicos (anexo 4).

Las preguntas van referidas a las últimas 4 semanas. Mediante este cuestionario de índice de función sexual de Rosen se evalúa la mejora de la actividad sexual (caricias, juegos sexuales, masturbación y relaciones sexuales). Tiene 19 ítems divididos en seis dominios (deseo, excitación, lubricación, orgasmo, satisfacción y dolor).

Las puntuaciones de cada dominio se obtienen por la suma de los ítems de cada dominio y su multiplicación por el factor correspondiente de cada dominio. Un **score** de 0 en un dominio indica no actividad sexual en el último mes. La pun-

tación total es la suma de las puntuaciones de los seis dominios. Las puntuaciones más altas indican una mejor función sexual mientras que la disfunción sexual se considera cuando la puntuación total es menor de 26.⁴⁸

El IFS en español resulta ser de uso sencillo y rápido. La aplicación del test de Cronbach a las respuestas obtenidas en este estudio muestra una muy buena consistencia interna (Cronbach $\alpha > 0,70-0,80$) de los diferentes dominios, validando la traducción realizada.

1.8. Tratamiento actual

La primera línea de tratamiento es el uso tópico de propionato de clobetasol al 0,05% durante 3 meses (nivel de evidencia 1). Con este tratamiento se ha visto una mejora de los síntomas en la mayoría de las pacientes, con un alivio sintomático en un 60-70% de los casos, pero con tan solo una remisión completa en un 20% de las pacientes⁴⁹. Al compararlo con placebo en un ensayo clínico controlado, el propionato de clobetasol al 0,05% fue efectivo para tratar el LE genital con los siguientes resultados: "mejoría o remisión de los síntomas calificados por el participante" (cociente de riesgos [CR] 2,85; intervalo de confianza [IC] del 95%: 1,45 a 5,61 y "grado de mejoría global calificada por el investigador" diferencia de medias estandarizada [DME] 5,74; IC del 95%: 4,26 a 7,23).⁴⁹ Dicha revisión ha concluido que el propionato de clobetasol tópico al 0,05% y el furoato de mometasona son efectivos en el tratamiento del LE comparados con placebo. Por el contrario, no se ha visto beneficio significativo con la aplicación tópica de testosterona, dihidrotestosterona y progesterona⁴⁹.

En la mayoría de los estudios retrospectivos y prospectivos el propionato de clobetasol se aplicó durante 12-24 semanas. Tanto la seguridad como la eficacia del clobetasol se han documentado en todos los grupos de edad y todos los sexos. Casi todos los pacientes con LE vulvar respondieron a los corticoides tópicos ultrapotentes y entre los que respondieron, aproximadamente un 20% experimentaron una remisión completa. Sin embargo, los corticoides tópicos no curan la enfermedad ni eliminan la posibilidad de recaída. Parecen solucionar los principales síntomas, pero los daños estructurales, la atrofia y la piel cicatricial tienden a persistir.

Estudios simples han descrito una mejoría del LE vulvar con el tratamiento tópico de derivados de la vitamina A, pero estas observaciones requieren estudios controlados. El tratamiento oral con derivados de la vitamina A (etretinato o acitretino) a dosis de 20-30 mg/día durante 16 semanas es efectivo comparado con placebo en el LE, pero la respuesta solo es visible después de meses de tratamiento. El

mecanismo exacto por el que los retinoides mejoran la esclerosis es desconocido. Sin embargo, en los cultivos de fibroblastos de la esclerodermia, los retinoides inducen la COX-2 y PGE2 mientras que actúan inhibiendo el factor profibrótico CTGF y la producción de colágeno I y III. Además, los retinoides interactúan con el TGF- β , mediante la estimulación de la síntesis de colágeno por los fibroblastos⁵⁰.

Debido a que el IFN- γ y el IFN- α normalizan la producción patológica de colágeno por parte de los fibroblastos in vitro, se han testado ambas citoquinas para el tratamiento de la morfea. Sin embargo, ninguna citoquina, en estudios controlados, ha logrado revertir la esclerosis^{51,52}. No está claro el papel patogénico del TNF- α (Factor de necrosis tumoral alfa) en la esclerosis sistémica o en la morfea. En un estudio piloto de pacientes con esclerosis sistémica, el infliximab (fármaco anti-TNF) no mejoró la esclerosis de la piel.

Los factores de crecimiento TGF- β (Factor crecimiento transformador β) y PDGF (Factor de crecimiento derivado de plaquetas) juegan un importante papel en la génesis de la esclerosis cutánea por lo que la inhibición del receptor de PDGF mediante la administración sistémica de imatinib (inhibidor de múltiples quinasas) produjo una reducción de la esclerosis de la piel en pacientes con esclerosis sistémica⁵³.

Como he reseñado con anterioridad, los corticoides tópicos (propionato de clobetasol 0,05%) son el tratamiento principal para el LE consiguiendo un efectivo control de síntomas, pero la recurrencia es frecuente después del tratamiento por lo que la terapia de mantenimiento se hace necesaria para evitar la esclerosis. Además, la terapia corticoidea no consigue revertir los cambios estructurales acontecidos en los grados de afectación moderada o severa como son la fimosis clitoriana, de labios mayores y menores. Aunque los corticoides tópicos siguen siendo la primera línea de tratamiento, en la actualidad se ha investigado sobre el posible papel de los injertos de grasa autóloga y de células mesenquimales de la fracción vascular estromal del tejido adiposo asociado a plasma rico en plaquetas como una alternativa y/o complemento al tratamiento tópico con corticoides en aquellos casos rebeldes.⁵⁴

En los pocos estudios publicados hasta el momento, se ha visto en los resultados de las biopsias tras el tratamiento con la infiltración de tejido graso autólogo una marcada reducción de la fibrosis y de la inflamación crónica, una reducción del edema de la dermis y de la hiperqueratosis^{54,55}. A nivel macroscópico se ha observado una mejora del trofismo de la piel y mucosa, una mayor elasticidad del introito y una disminución de la fimosis clitoriana junto con un aumento del volumen tanto de los labios mayores como de los menores. En un estudio llevado a cabo entre 2011-2014, se objetivó además que casi un 80% de las pacientes sufrieron

una remisión de las lesiones blanquecinas y un 95% prescindió del uso de corticoides tópicos. Las pacientes relataron una mejora significativa en la calidad de vida y en su actividad sexual debido a una marcada reducción de los síntomas⁵⁵.

Hay evidencia de que las células madre mesenquimales contribuyen a la restauración de la vascularización tisular. A la presencia significativa de este tipo de células pluripotenciales con capacidad de neovascularización y de regeneración en tejidos que han sufrido radioterapia, se suma que es un proceso mínimamente invasivo. Mediante esta terapia se ha conseguido la restauración tisular en pacientes con úlceras por radionecrosis tras neoplasias mamarias⁵⁶.

El uso de tejido adiposo se basa en recientes estudios que han demostrado que posee propiedades antiinflamatorias e inmunomoduladoras ya que es la fuente principal de IL-1Ra (antagonista específico de la IL-1 proinflamatoria).⁵⁷ Estas propiedades se deben principalmente a las células mesenquimales de la fracción vascular estromal del tejido graso, las cuales parecen modular respuestas antiinflamatorias al interactuar con células dendríticas, linfocitos T y células natural killer. Las células mesenquimales parece que también poseen funciones inmunosupresoras al segregar los factores Inmunomoduladores TGF, HGF (Factor de crecimiento hepatocítico), VGF (Factor de crecimiento vascular), EGF (Factor de crecimiento endotelial), FGF (Factor de crecimiento de fibroblastos), QGF (Factor de crecimiento de queratinocitos), PDGF, IL-6 (Interleuquina-6), IL-10 (Interleuquina-10) y HLA-G5 entre otros que disminuyen la vigilancia de los linfocitos T y los procesos inflamatorios. El efecto final se traduce en cierta inhibición de la fibrosis y una curación mediante remodelación de la matriz extracelular^{58,59}. En resumen, las células madres (CD44+, CD90+ y CD105+) presentes en el tejido adiposo son capaces de diferenciarse en diferentes tejidos mesenquimales y de producir un efecto inmunomodulador y antiinflamatorio.

Por otro lado, el PRP (plasma rico en plaquetas) es una concentración autóloga de plaquetas humanas en un volumen pequeño de plasma que representan un aumento de plaquetas sobre la línea normal, siendo así una fuente de fácil acceso a los Factores de crecimiento (FC) contenidos en ellas, permitiendo así acelerar y mejorar los procesos de cicatrización y de regeneración tisular⁶⁰. Por consiguiente, el término PRP se refiere al gel o concentrado de plaquetas autólogas o plasma rico en FC (Tabla 2).

Al ser un agregado de plaquetas contiene los FC, proteínas fundamentales que son secretados al activarse las mismas cuando se inicia el proceso de cicatrización de las heridas. El PRP es otra forma normal de coágulo sanguíneo autólogo que contiene un número favorablemente elevado de plaquetas y presenta un pH entre 6,5 y 6,7.

Tabla 2. Composición del PRP.

Categoría	Proteínas	Función
Proteínas adhesivas	Factor Von Willebrand + Pro-péptido, Fibrinógeno, Fibronectina, Vitronectina, TSP-1, laminina-8 (subunidades de laminina alpha 4- y alpha 5-), SCUBE1	Interacción celular, hemostasia y coagulación, composición de la matriz extracelular.
Factores de coagulación y proteínas asociadas	Factor V/Va, proteína del tipo factor XI, multimerina, proteína S, quininógeno de alto peso molecular, anti-trombina III, inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI) 1	Producción de trombina y su regulación
Factores fibrinolíticos y proteínas asociadas	Plasminógeno, PAI-I, u-PA, alfa 2 antiplasmina, glicoproteína rica en histidina, TAFI, alfa 2 macroglobulina	Producción de plasmina y modelado vascular
Proteasas y anti proteasas	Inhibidores de metaloproteasas 1-4 (TMPs 1-4), metaloproteasas -1, -2, -4, -9, ADAMTS 13, TACE, inhibidor plaquetario de FIX, proteasina nexina 2, inhibidor C1, inhibidor 8 de la proteinasa serpina, alfa 1 antitripsina	Angiogénesis, modelado vascular, regulación de la coagulación, regulación del comportamiento celular
Factores de crecimiento	PDGF, TGF-beta 1 y 2, EGF, IGF-1, VEGF (A y C), bFGF (FGF-2), HGF, BMP -2, -4, -6, CTGF	Quimiotaxis, Proliferación celular y diferenciación, angiogénesis
Quimioquinas, citoquinas y otros	RANTES, IL8, MIP 1-alfa, ENA 78, MCP-3, alfa GRO, angiopoyetina 1, IGF-BP3, IL-6sR, PF4, proteína básica plaquetaria, NAP-2, péptido III activador del tejido conectivo, HMGB1, FasL, LIGHT, TRAIL, alfa SDF 1, endostatinas, osteonectina, sialoproteína ósea	Regulación de la angiogénesis, modelado vascular, interacciones celulares, formación ósea

Categoría	Proteínas	Función
Proteínas antimicrobianas	Trombocidinas	Propiedades bacterianas y fungicidas
Glicoproteínas de membrana	α IIb β 3, α v β 3, GPIb, PECAM-1, la mayoría de los constituyentes de la membrana plasmática, receptores de los agonistas primarios, CD40L, factor tisular, P-selectina, TLT-1	Agregación y adhesión de plaquetas, endocitosis de las proteínas, inflamación, generación de trombina, interacciones entre plaquetas y leucocitos
Otros	Sulfato de condroitina 4, albúmina, inmunoglobulinas, disabled-2, semaforina	Promueve la angiogénesis la regeneración del cartílago, la fibrosis y la adhesión plaquetaria

Proviene de la propia sangre del paciente, por lo cual está libre de enfermedades trasmisibles y no puede causar reacciones de hipersensibilidad. El número de plaquetas requerido en un coágulo para calificar como PRP puede ser discutible, pero una concentración de aproximadamente 1 millón de plaquetas/QL, o de 4 a 7 veces sobre su cuenta básicamente usual (200.000 plaquetas/QL), ha demostrado proporcionar beneficios clínicos⁶¹. Un coágulo de sangre normal contiene 93% de células de rojas, 6% de plaquetas y en algunos casos menos de un 1% de células blancas; en contraste, un coágulo de PRP contiene 94% de plaquetas, sólo un 5% de células rojas y un 1% de células blancas. Esta alteración de las proporciones celulares de las células que no estimulan la cicatrización (células rojas) por las que si estimulan todas las fases de la cicatrización (plaquetas), es lo que explica su habilidad en reforzar la regeneración tisular.

La estrategia simple y beneficiosa del PRP es aumentar las acciones de los FC para regenerar los tejidos a través del aumento de la cantidad de plaquetas. A finales de los años noventa, Whitman y col (1997) introdujeron el uso del PRP en el área de la cirugía bucal, el cual ha sido aceptado ampliamente como una nueva biotecnología que es parte del interés creciente en la ingeniería tisular y la terapia celular actual⁶².

Cabe destacar que, en la enfermedad de Crohn, otra enfermedad autoinmune que puede afectar a la zona perianal en forma de fístulas, se ha utilizado la metodología de células madre derivadas del tejido graso para el tratamiento de fístulas

recto-vaginales⁶³. Estas fístulas son de difícil manejo y los resultados con esta técnica parecen prometedores. En este sentido, ensayos clínicos en fase III han reportado datos de un 60% de curación completa de las fístulas rectovaginales en la enfermedad de Crohn tras la aplicación de células madre alogénicas derivadas de tejido graso concluyendo que las células madre derivadas de tejido graso, expandidas y alogénicas (Cx601) son un tratamiento seguro y efectivo para las fístulas perianales complejas en pacientes con enfermedad de Crohn que no respondieron a tratamiento convencional, tratamiento biológico o ambos⁶⁴.

Estos resultados en otros estudios se han elevado a un 80% a los 12 meses y a los 75% a los 24 meses, lo cual arroja resultados esperanzadores en cuanto al mantenimiento de los efectos beneficiosos a largo plazo⁶⁵.

Existen numerosos estudios preclínicos que demuestran que tanto la SVF (fracción vascular estromal) como las ASC (células madre derivadas del tejido graso) ejercen una acción protectora contra las lesiones vasculares agudas, y sugieren que se podrían usar en pacientes con enfermedades vasculares periféricas^{66,67}. Asimismo, estudios en infarto de miocardio muestran que hay menor lesión muscular histológica cuando hay un tratamiento precoz con ASC, aunque no está claro que las células puedan convertirse en cardiomiocitos. Lo que sí existe es una mejor recuperación funcional del miocardio⁶⁸.

En otro estudio se ha visto que el hidrogel de plasma sanguíneo humano es un soporte adecuado para que las células madre mesenquimales derivadas de tejido adiposo humano proliferen y se diferencien hacia el linaje osteogénico y constituye un vehículo adecuado para su administración en regeneración del tejido óseo⁶⁹.

1.9. Justificación del estudio.

En resumen, los estudios actuales han demostrado que el tejido adiposo posee propiedades antiinflamatorias e inmunomoduladoras que se deben principalmente a las células mesenquimales de la SVF del tejido. Las células mesenquimales parece que también poseen funciones inmunosupresoras al segregar factores que disminuyen la vigilancia de los linfocitos T y los procesos inflamatorios. El efecto final se traduce en una inhibición de la fibrosis y en cierta curación mediante remodelación de la matriz extracelular. El hecho de que el PRP aumente las acciones de los FC en la regeneración de los tejidos, parece lógico pensar que la asociación al tejido graso autólogo parece que pueda potenciar el efecto inmunomodulador, antiinflamatorio y reparador de este último⁷⁰.

Con todo lo anterior nos pareció apropiado realizar un estudio para determinar si el tratamiento mediante injerto adiposo y plasma rico en plaquetas autólogo,

consigue un restablecimiento estructural de las subunidades vulvares afectadas, una mejoría de las lesiones, de la elasticidad, de los síntomas y por tanto de la calidad de vida y función sexual de las pacientes afectadas de LEV.

El análisis de la competencia del tratamiento con tejido adiposo y PRP autólogo para el LEV podría hacerse extensible a una amplia cohorte prospectiva, una vez demostrada su eficacia y seguridad.

1.10. Hipótesis.

El tratamiento del liquen escleroso vulvar mediante lipoinjerto enriquecido con plasma rico en plaquetas autólogo, podría conseguir una mejoría de las lesiones a nivel micro y macroscópico, además de los síntomas, elasticidad, calidad de vida y función sexual de las pacientes afectadas por dicha enfermedad desde fases tempranas del tratamiento.

PARTE II

OBJETIVOS

2.1 Objetivo principal

Evaluar la eficacia del tratamiento con tejido adiposo y plasma rico en plaquetas autólogo (PRP) en pacientes con liquen escleroso vulvar (LEV) en términos de mejoría anatomopatológica (inflamación y fibrosis) de las lesiones y compararlo con el tratamiento estándar de aplicación tópica de corticoides.

2.2 Objetivos secundarios

1. Evaluar la mejoría sintomática y de afectación macroscópica de las subunidades vulvares afectadas.
2. Estudiar la mejoría de la elasticidad.
3. Analizar la eficacia clínica en términos de mejoría del prurito.
4. Examinar el impacto del tratamiento sobre la calidad de vida.
5. Estimar la mejora en la función sexual.
6. Evaluar los eventos adversos derivados del tratamiento.

PARTE III

METODOLOGIA

3.1 Diseño del estudio

Ensayo Clínico, en fase II, controlado, aleatorizado simple ciego, unicéntrico y prospectivo.

3.2 Población

Se incluyeron mujeres de 18 a 70 años de edad con diagnóstico de LEV, con afectación moderada a severa de la enfermedad a nivel genital y que hubieran llevado durante al menos los 3 meses previos tratamiento tópico según práctica clínica sin haber presentado mejoría. Se permitió mantener sin cambios el resto de tratamiento habitual y para la enfermedad durante el estudio.

3.2.1 Criterios de inclusión

- Mujeres adultas entre 18 y 70 años de edad.
- Pacientes con diagnóstico de certeza de LEV, clínico y/o histológico (confirmado con biopsia).
- Pacientes con afectación moderada o severa de la enfermedad a nivel genital por diagnóstico clínico mediante exploración física o por anatomía patológica.
- Pacientes no respondedoras al tratamiento convencional con corticoides tópicos*.
- Pacientes que dieran su consentimiento para participar en el estudio.

* Cuando tras la administración de un régimen de inducción con propionato de clobetasol al 0.05% con la pauta⁴⁹ de 3 meses de duración de una aplicación diaria durante el primer mes, una aplicación días alternos durante el segundo mes y dos aplicaciones a la semana durante el tercer mes, no hubiera cambios evidentes respecto a la sintomatología inicial y las alteraciones histológicas graves.

3.2.2 Criterios de exclusión

- Mujeres embarazadas o en periodo de lactancia.
- Alcohólicas y/o usuarias de drogas por vía parenteral.
- Enfermedad maligna diagnosticada en los últimos 5 años.
- Antecedentes de infección por los virus VHS-II, VPH, VIH, VHB y VHC.
- Enfermedad infecciosa activa grave.
- Alergia o intolerancia reconocida a cualquiera de los tratamientos usados.
- Antecedentes de padecimiento de otras enfermedades inflamatorias con afectación vulvar (enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, psoriasis, eczema).
- Pacientes con expectativas poco realistas respecto a los beneficios finales del tratamiento.

3.2.3. Criterios de retirada

Las participantes pudieron retirar el consentimiento para su participación en cualquier momento del estudio y sin que esto supusiera ningún perjuicio. Adicionalmente, el investigador podía retirar a una paciente del estudio en caso de empeoramiento con el tratamiento empleado a criterio del clínico/investigador principal o si la paciente no podía cumplir con los requisitos del protocolo.

Los principales motivos considerados para detener el estudio fueron los siguientes:

- Incidencia inaceptable de acontecimientos adversos.
- Inclusión inadecuada de pacientes.
- Recogida de datos inadecuada o imprecisa.
- Necesidad de cambio de medicación por empeoramiento de la enfermedad.

En caso de exacerbación de la enfermedad, las pacientes de ambos grupos contactaron con el servicio de Dermatología para ser valoradas y tratadas de la manera más pertinente.

Las hojas individuales de recogida de datos de las pacientes excluidas se tuvieron en cuenta en el estudio.

3.3 Método de reclutamiento y aleatorización

El reclutamiento se hizo de forma consecutiva a partir de una lista de pacientes de una base de datos del departamento de Dermatología del Hospital La Fe con el diagnóstico clínico y/o histológico de LEV.

Las pacientes incluidas en el ensayo clínico se aleatorizaron en dos grupos:

- **Grupo 1 (control):** Tratamiento de mantenimiento de la terapia tópica con corticoides administrada por práctica clínica habitual.
- **Grupo 2 (de tratamiento o experimental):** Inyección intra y subdérmica en cada mitad vulvar de la mezcla resultante de tejido graso autólogo y de plasma rico en plaquetas autólogo (PRP).

La aleatorización se realizó por bloques de tamaño aleatorio mediante el software R (versión 3.5.3). Este sistema proporcionó la rama a la que correspondía la paciente que era nombrada por las siglas LIQ y el número de orden en la inclusión con dos dígitos y únicamente el investigador que llevaba a cabo la infiltración de ambos tratamientos en el quirófano conocía qué tratamiento estaba administrando.

Según este sistema de aleatorización, al grupo control pertenecían las pacientes LIQ 01, LIQ 06, LIQ 07, LIQ 13, LIQ 14, LIQ 16, LIQ 18, LIQ 19, LIQ 20 Y LIQ 23 y al grupo tratamiento las siguientes: LIQ 02, LIQ 03, LIQ 04, LIQ 10, LIQ 11, LIQ 12, LIQ 15, LIQ 21 y LIQ 22.

El resto de los tratamientos concomitantes para el manejo del LEV se mantuvieron sin cambios durante todo el estudio.

3.4 Consideraciones éticas y legales

Este estudio se realizó de acuerdo con la Declaración de Helsinki sobre principios éticos para la investigación médica en sujetos humanos, adoptada por la Asamblea General de la Asociación Médica Mundial (1996). Además, el estudio se realizó de acuerdo con el protocolo, buena práctica clínica (BPC) de acuerdo con las directrices de la conferencia internacional sobre armonización (ICH) y los requisitos normativos para las instituciones participantes. El estudio se realizó según un protocolo revisado por un Comité de Ética de la Investigación con medicamentos (CEIm); el estudio se realizó por personas científica y médicamente cualificadas;

los beneficios del estudio estuvieron en proporción con los riesgos; se respetaron los derechos y el bienestar de los sujetos; los médicos que realizaron el estudio no encontraron que los riesgos superaron los posibles beneficios y cada sujeto facilitó su consentimiento informado sin coacción.

El investigador presentó al CEIm un modelo de consentimiento informado apropiadamente realizado, por escrito, en cumplimiento con la BPC según las directrices de la ICH y los requisitos legales locales, para la revisión y aprobación por parte de este Comité antes de iniciar el estudio. Previo a introducir las pacientes en el estudio, se revisó una copia del consentimiento informado aprobado por el CEIm con el posible participante, y se firmó y fechó.

El investigador proporcionó una copia del formulario de consentimiento informado (Anexo 8) y del consentimiento de toma de fotografías (Anexo 9) firmado de cada sujeto y conservó una copia en el archivo del estudio del sujeto.

Tras el procedimiento quirúrgico se explicó verbalmente y por escrito las instrucciones postoperatorias pertinentes (Anexo 5) y la fecha y hora de la nueva visita en el servicio de dermatología (al mes tras la primera infiltración y a los tres meses tras la segunda). Adicionalmente, a las pacientes se les facilitó el número de teléfono de contacto con dermatología para la comunicación de cualquier reacción adversa o la resolución de cualquier duda.

3.5 Procedimiento de obtención de los tejidos

3.5.1. Obtención del tejido graso autólogo.

El tejido graso o adiposo se tomó de la zona infraumbilical o de la cara interna de muslos dependiendo de las características individuales de cada paciente (Fig. 5). Una vez seleccionada la zona donante, se procedió a la obtención de la siguiente forma:

- Infiltración de 20-40 cc de una solución anestésica compuesta por 1000 ml de Ringer lactato (RL) junto con 1cc de adrenalina para disminuir el sangrado de dicha zona donante y 10 ml de lidocaína al 2%.
- Espera de 10-20 minutos para que se embebiera la zona donante de dicha solución anestésica y posteriormente se realizó un lipoaspirado manual con la cánula de 3mm conectada a una jeringa de 10 CC. El émbolo se mantuvo siempre a 3-4 cc de presión por encima de la cantidad de tejido graso aspirado para evitar el daño del adipocito.

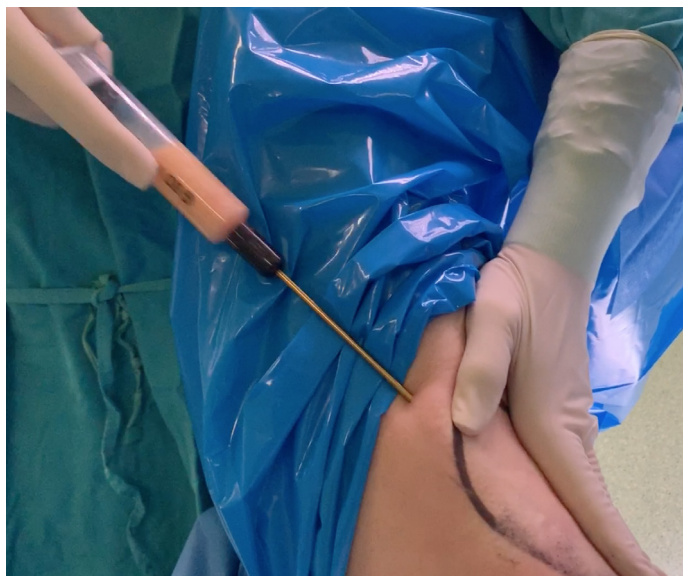


Figura 5. Liposucción manual

El tejido graso recolectado en las jeringas de 10 cc se transfirió a 2-3 tubos estériles de 20 cc los cuales se introdujeron en la centrífuga Duografter II® (Fig. 6). Dicho sistema de centrifugación es una unidad central para la obtención de Plasma Autólogo Rico en Agentes Señalizadores PRAS® y/o concentrados de grasa autóloga. Utiliza la tecnología Cells emotion© que es un proceso de separación que respeta la integridad y función celular permitiendo la obtención del máximo provecho de todo el potencial biológico y terapéutico de las células de su paciente. Además, es un dispositivo médico clase IIa y sus accesorios internos son reesterilizables. Dicho sistema garantiza la obtención de plasma/adipocitos, en entornos totalmente asépticos, utilizando los equipos desechables Cutaneous Pras® para el plasma y Lipopras® para el tejido adiposo.

El Lipopras® es un kit de concentración de adipocitos para microinjertos de grasa que requiere del equipo Duografter®II el cual está homologado y especializado en concentración celular (adipocitos, plaquetas y médula ósea). Este kit purifica la muestra lipoaspirada y mantiene un índice de hidratación adecuado de los adipocitos, lo cual facilitó su inyección y biointegración. Además, reduce significativamente la presencia de agentes proinflamatorios, detritus, fármacos y aceites libres de la muestra de adipocitos.

Para fraccionar la muestra y preservar al máximo la fracción vascular estromal, este sistema utiliza la tecnología Cells emotion© con un programa específico para concentrar los adipocitos. Adicionalmente, este sistema de empuje o *push-out* permite seleccionar el tipo de adipocito, de baja o alta densidad sin manipulaciones o complicaciones y se trata de un sistema cerrado y de uso único.



Figura 6. Duografter II®

El material del cual está fabricado es un polímero de grado médico exento de carga electroestática, nanopulido y lubricado, que minimiza la pérdida celular por adherencia a sus paredes y garantiza la recuperación y viabilidad celular de la SVF y adipocitos.

Otra de las ventajas del kit Lipopras® es que permite la transferencia directa del tejido graso purificado del tubo a la jeringa de aplicación sin dañar los adipocitos. Mediante el sistema *push-out* (Fig. 7) se consigue desechar los ácidos grasos libres y recolectar tanto el tejido graso de baja densidad como el de alta densidad de adipocitos.

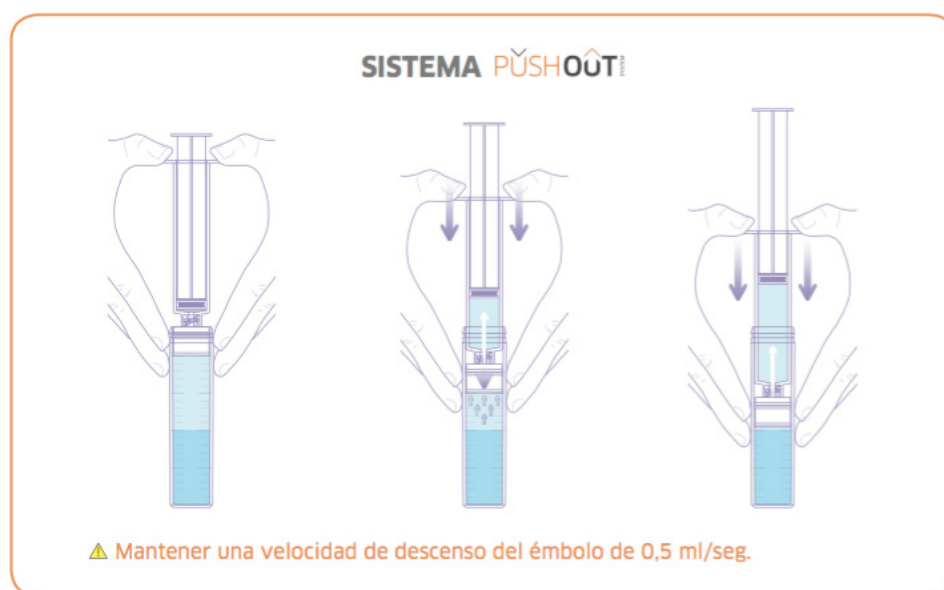


Fig. 7. Sistema Push-out

- A continuación, procedimos a la centrifugación de los tubos con el tejido adiposo aspirado procedente del kit Lipopras® y tratado mediante el método de la lipoestructura del Dr. Sidney Coleman (3000 rpm durante 3 minutos) lo cual permitió la separación del tejido adiposo inyectable de las células rojas y de los ácidos grasos libres (Fig. 8 A y B).



Fig. 8 A y B Productos obtenidos tras centrifugación del tejido adiposo

- Una vez obtenido el tejido graso purificado tras la centrifugación, lo transferimos a las jeringas de 10cc y de éstas, a las jeringas de 3 cc y de 1cc.

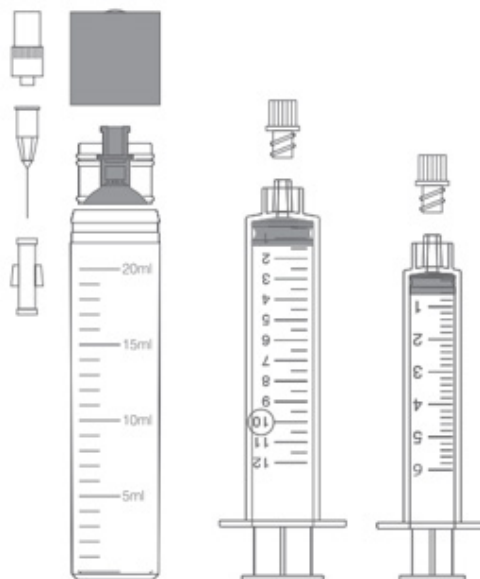


Figura. 9 componentes kit Lipopras® para purificación tejido adiposo

La razón de la transferencia mediante transductores a jeringas de menor calibre (Fig. 9) es porque nos brinda la oportunidad de hacer menor presión a la hora de la inyección lo cual redundaría en un beneficio en cuanto a la supervivencia del adipocito.

Para obtener una textura homogénea de la solución a inyectar en las diferentes zonas (esencial para una inyección intra y subdérmica con agujas de 20-27G) utilizamos un transductor emulsificador (Fig. 6) perforado Tulip® estéril conectado mediante sistema Luer-Lock (LL) a 2 jeringuillas de 3 cc si utilizamos agujas de 20 G o cánulas de Coleman de 1.2 mm de diámetro o de 1cc si usamos agujas de 27 G. El tejido graso purificado se transfirió 40 veces de jeringa a jeringa a través de dicho emulsificador para lograr la textura más fluida y homogénea antes mencionada. El producto resultante se mezcló con el PRP como se detalla a continuación.

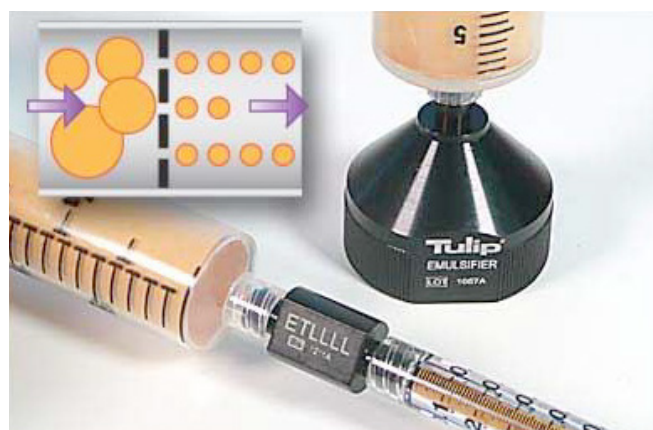


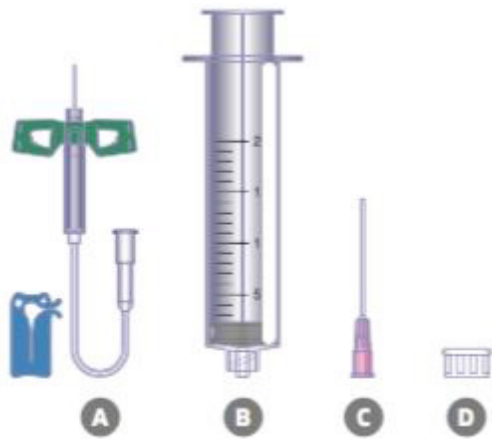
Fig. 10 Emulsificador Tulip®

3.5.2. Obtención del plasma rico en plaquetas autólogo.

Todo este proceso de obtención de la muestra se realizó con una manipulación estéril, en quirófano y en un sistema cerrado para evitar cualquier tipo de contaminación.

Para la obtención de PRP seguimos el protocolo Cutaneous Pras® 20 (sistema de concentración de PRP para aplicaciones dermatológicas). El sistema de centrifugado fue el mismo que para la obtención del tejido graso purificado (Duografter II®). En las figuras 11A, 11B y 11C se representan los diferentes kits usados para la obtención y el procesamiento del PRP.

- Para la obtención de los 4 cc de PRP necesarios, tuvimos que extraer al menos 18 ml de sangre venosa periférica mediante venopunción en



- A** Palomilla de punción 21G (incluye clamp).
- B** Jeringa 20ml LL(Luer-Lock).
- C** Cánula 18 G.
- D** Tapón sangre.

Fig.11A Kit extracción:



- C** Cánula 18G
- E** Aguja 21G
- F** Aguja de purga y filtro
- G** Tapón plasma
- H** Conector LL Hembra-hembra
- I** Dispositivo Cutaneous
- J** Tubo contrapeso
- K** Jeringa 5ml LL
- L** Jeringa 10ml LL
- M** Jeringa 1ml

Fig.11B Kit de procesamiento



- N** Anticoagulante 4ml
- O** Activador 1ml

Fig. 11C Kit anticoagulante / activador

un tubo que contenía 2 ml de citrato sódico al 3,13% (anticoagulante) (Fig.11C). Con esto conseguimos un total de 20 ml de sangre anticoagulada (Fig.11D) que se transfirió al tubo Proteal®. Se retiraron las agujas para que saliera el aire y se colocó el tapón protector del tubo Proteal antes de la centrifugación (Fig.11E).

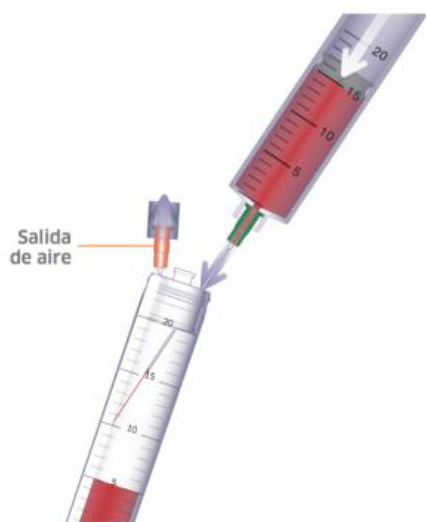


Fig. 11D mezcla de sangre periférica con citrato sódico 3.13%

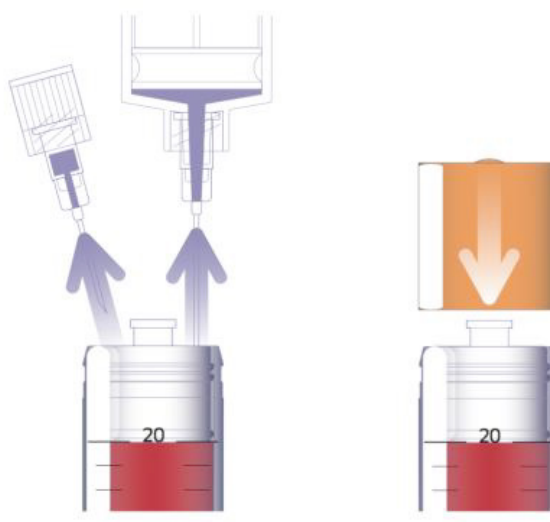


Fig. 11E llenado del tubo para centrifugación

- Posteriormente se realizó la centrifugación según el programa para la obtención de PRP de la centrifuga Duografter II® (1800 rpm durante 8 minutos). Después de este proceso se pudieron observar las fracciones que se detallan a continuación y que se representan en la figura 7F:

- Fracción plasmática (10 ml): contiene unos 6 ml de plasma pobre en plaquetas (PPP) y unos 4 ml de PRP.
- Fracción blanca
- Fracción roja (10 ml).

- A continuación, el tubo Proteal se colocó en el soporte metálico evitando agitarlo y posteriormente mediante el sistema *Push-Out*® ya comentado con anterioridad (Fig.7) para la obtención del tejido graso purificado, se procedió a la obtención de la fracción del PRP y al desecho de la fracción de PPP, de la fracción roja y blanca (Fig.11G).

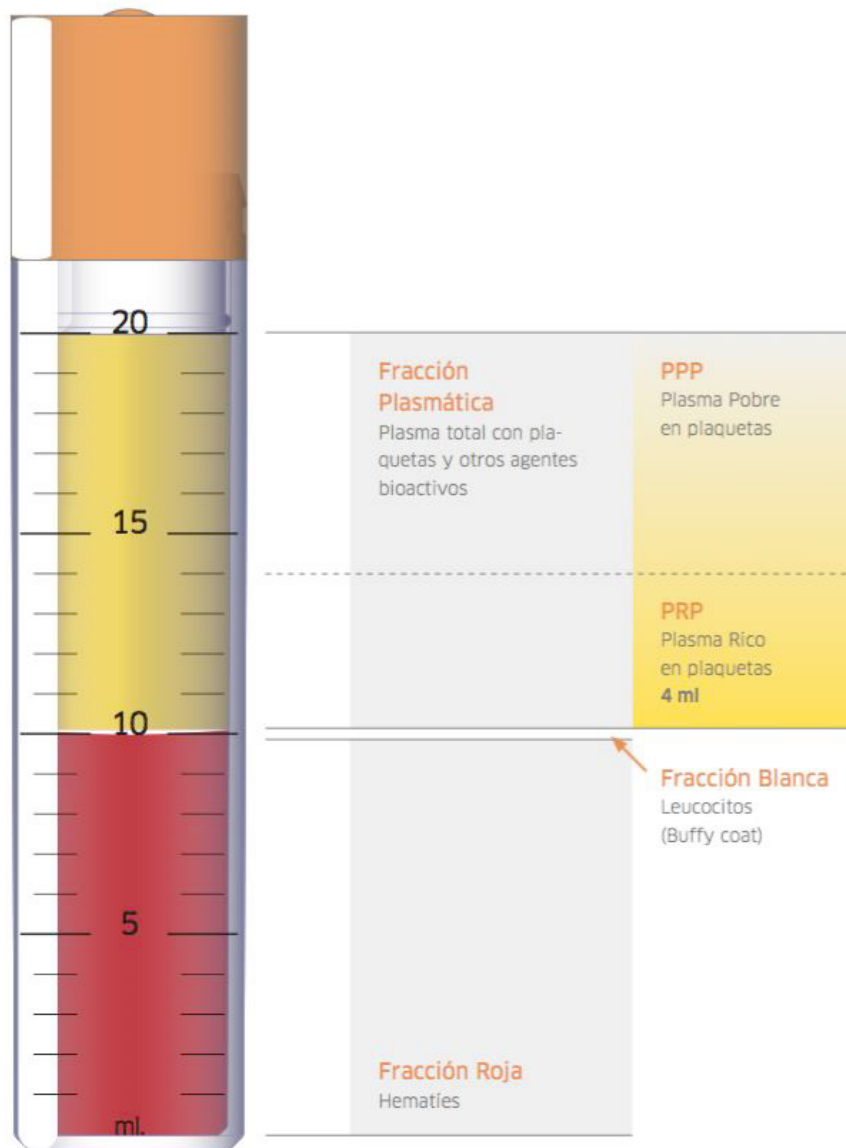


Fig. 11F Fracciones tras centrifugación de sangre anticoagulada.

- La activación de los 4 ml de PRP se realizó con 0,2 ml de cloruro cálcico (0,05 ml por cada ml de PRP). El PRP activado (4 cc en total) se transfirió mediante un transductor estéril a la jeringa de 1 ó 3 cc con tejido graso purificado (0,2 cc de PRP por cada ml de tejido graso puro) (Fig.11H).
- Procedimos a la correcta homogeneización del tejido adiposo purificado y del PRP mediante la pasada de 10 veces a través de un transductor estéril conectado a las jeringas de 1 o 3 CC.



Fig. 11G PRP inactivo

- La mezcla resultante en una jeringa de 1 cc quedó del siguiente modo: 1 cc de tejido graso purificado más 0,2 cc de PRP, total 1,2 cc (Fig. 12). Mientras que, si usamos la jeringa de 3 cc, la mezcla quedó en la siguiente proporción: 3 cc de tejido graso purificado más 0,6 cc de PRP, en total 3,6cc.



Fig. 11H Activación PRP



Fig.12 Mezcla resultante

3.6 Procedimiento de administración del tratamiento

Las pacientes pertenecientes al grupo 1 (control) continuaron con propionato de clobetasol al 0,05% según práctica clínica habitual.

Las pacientes del grupo 2 (tratamiento o experimental) recibieron la infiltración intra y subdérmica en cada mitad vulvar de idéntica cantidad de tejido graso autólogo (10 cc) enriquecido con PRP autólogo (2 cc) en dos sesiones separadas por tres meses.

Todo el proceso de administración del tratamiento experimental se realizó en quirófano y bajo condiciones de asepsia. Las pacientes fueron previamente evaluadas en una visita pre-anestésica (visita 2) por un anestesista del servicio de Anestesia y Reanimación del Hospital La Fe para verificar que cumplían criterios clínicos para ser tratadas bajo anestesia local y sedación dentro del programa UCSI (Unidad de Cirugía Sin Ingreso).

La paciente permaneció sedada y en posición litotómica durante todo el procedimiento quirúrgico.

Tras las medidas de asepsia adecuadas de la zona vulvar con clorhexidina acuosa al 2%, procedimos a la infiltración intra y subdérmica mediante jeringas de 1 y 3 cc con agujas de 27 G y 20 G respectivamente de la mezcla obtenida de tejido adiposo y PRP autólogos (24cc) en las siguientes proporciones:

- Labio mayor: 8 cc por lado.

- Labio menor: 2 cc por lado.
- Capuchón clítoris: 1 CC.
- Introito: 1 CC.
- Vulva: 1 cc por lado.

Usamos el binomio jeringa de 1 cc con aguja de 27 G para la inyección de la mezcla en clítoris, labios menores, introito y vulva. Mientras que para la infiltración en labios mayores utilizamos el dúo de jeringa de 3 cc con aguja de 20 G o cánula de Coleman de 1.2 mm. La razón de esto es procurar un manejo más fácil y aplicar la menor presión posible a la mezcla a fin de no dañar el tejido adiposo a la hora de tratar las diferentes estructuras implicadas.

Acto seguido, inyectamos dicha mezcla (Fig.12) en el plano intra y subdérmico de la zona vulvar (Fig.13) susceptible de recibir el tratamiento.



Fig.13 infiltración de la mezcla en plano intra y subdérmico de la zona vulvar

Una vez finalizado el procedimiento quirúrgico, que duró aproximadamente unos 60-70 minutos, colocamos una compresa estéril en la zona tratada y la paciente salió de quirófano en camilla hasta la UCSI donde permaneció 3-4 horas como promedio o hasta que consiguió una adecuada tolerancia y restablecimiento que

le permitiera el alta a casa. Es entonces cuando se revisó de nuevo a la paciente y tanto verbalmente como por escrito se le dieron las instrucciones postoperatorias (Anexo 5) junto con la cita de revisión en la consulta de Dermatología (al mes tras la 1ª infiltración y a los 3 meses tras el 2º Tratamiento.) y un teléfono de dicho servicio para contactar en caso de duda o de evento adverso.

3.7 Procedimiento de toma de biopsias.

La toma basal de biopsias se realizó a todas las pacientes, tanto del grupo control como del grupo de tratamiento. Se llevó a cabo en la consulta de dermatología durante la visita 0 y después durante el seguimiento se realizaron las biopsias de control tal y como se expone en el esquema de visitas más adelante.

Las biopsias se tomaron bajo anestesia local con 1 cc de Mepivacaína al 2% en una zona diana de la vulva y se procedió a la toma mediante un punch de 4 mm. La muestra se introdujo en un bote estéril con formol, se etiquetó con la etiqueta identificativa de la paciente y se remitió al servicio de Anatomía Patológica al especialista ciego del estudio durante la misma mañana de la toma.

Posteriormente se cerró la oquedad del punch mediante un punto suelto de Vy-cril Rapide de 4/0 (sutura quirúrgica estéril, absorbible, sintética compuesta de un copolímero hecho de 90% de glicolida y 10% de L-láctida, Ethicon, Johnson & Johnson ®). Este tipo de sutura está indicada solo para uso en la aproximación superficial de tejidos blandos de la piel y la mucosa, donde solo se requiere soporte de heridas a corto plazo (7-10 días). Por regla general, el punto suelto se cae a los 10-15 días de forma espontánea.

Tras la biopsia se cubrió la zona con una gasa estéril y las pacientes retornaron a sus actividades habituales en el mismo día. Se les informó verbalmente que podía haber un sangrado leve de la zona de la biopsia durante las primeras 24 horas y se les explicó que debían aplicarse clorhexidina al 0,05% en dicho lugar hasta que el punto cayera. Esto no fue óbice para que siguieran aplicándose las soluciones emolientes o el propionato de clobetasol que estuvieran utilizando de forma habitual por prescripción del especialista en Dermatología asignado.

3.8 Criterios de evaluación y definiciones

3.8.1. Valoración de los cambios anatomopatológicos

El anatomopatólogo que analizó y describió las muestras de biopsia fue ciego, es decir, desconocía el tratamiento empleado en cada paciente. Se escogió un médico dentro del servicio de Anatomía Patológica del Hospital La Fe con experiencia en dermatología y en el análisis histológico del LEV.

El diagnóstico histológico del LEV vino definido por los siguientes cambios anatomopatológicos:

- En fases tempranas, edema dérmico superficial asociado a un infiltrado linfocítico en banda en la dermis. Dicho infiltrado inflamatorio está localizado a lo largo de la zona de hialinización y corre a cargo de linfocitos T CD4+ y CD8+, macrófagos, eosinófilos y mastocitos.
- En fases más tardías, el infiltrado mononuclear es escaso y disperso en islas dentro de la dermis hialinizada además de un acortamiento y engrosamiento de las fibras de colágeno y pérdida de fibras elásticas. Puede haber también fisuras y hemorragias dentro de la dermis papilar.

El análisis de los distintos parámetros anatomopatológicos, así como los linfocitos T, melanófagos, eosinófilos y mastocitos se realizó con microscopio óptico Nikon®. Para revelar en las muestras histológicas los linfocitos T y mastocitos se utilizaron técnicas inmunohistoquímicas con anticuerpos anti- CD3 y CD117 respectivamente. En el resto fue suficiente con la tinción rutinaria de hematoxilina-eosina. Para el conteo de cada tipo celular se utilizaron 4 campos a 40X. Se contabilizaron las células en cada uno de los campos, se sumaron el total de células de los 4 campos y se dividió por 4 para calcular la media. En el caso de los linfocitos T, agrupamos la media de cada caso en 3 valores (1, 2 y 3), siendo 1 de 1-20 linfocitos T; 2 de 21-50 linfocitos T; 3 >50 linfocitos T. El resto de parámetros se valoraron en 1 o 0 en función de si estaban o no presentes, presente (1), ausente (0).

Se cuantificaron los diferentes eventos anatomopatológicos antes y después del tratamiento con el fin de caracterizar el impacto del mismo en las muestras de biopsia. Como he reseñado con anterioridad, se cuantificaron el número de linfocitos T, eosinófilos, mastocitos y melanófagos, así como la cantidad de cuerpos apoptóticos y la magnitud de la hiperqueratosis. Se utilizaron éstos porque se consideran los principales factores que describen la inflamación acontecida en el LEV.

Por un lado, se cuantificó el componente inflamatorio en las fases tempranas

del LEV: Linfocitos T (marcados inmunohistoquímicamente con anti-CD3), eosinófilos intradérmicos, mastocitos (revelados con el marcador de CD117).

Por otro lado, también se cuantificaron los marcadores de lesión epidérmica crónicos directos e indirectos como paraqueratosis (conservación de núcleos en la capa córnea), hiperqueratosis (aumento del grosor del estrato córneo), cuerpos apoptóticos (queratinocitos en apoptosis) y melanófagos (macrófagos cargados de melanina).

En este estudio también se midieron la exocitosis (presencia de linfocitos o componente inflamatorio intraepidérmico), hipergranulosis (aumento del espesor del estrato granuloso), acantosis (aumento del grosor epidérmico), linfocitos dérmicos perivasculares y los parámetros de atrofia epidérmica y fibrosis subepitelial o dérmica.

Según los cambios visualizados en la biopsia inicial, se clasificó a cada paciente en estadio precoz o avanzado:

- Estadio precoz: Dermatitis con un infiltrado linfocitario a lo largo de la unión epitelio-submucosa.
- Estadio avanzado: Cualquiera de los siguientes criterios:
 - Destrucción de la lámina basal.
 - Ortoqueratosis.
 - Hipergranulocitosis con existencia en la dermis papilar de un infiltrado de linfocitos y melanófagos con cuerpos de Civatte (queratinocitos apoptóticos).

El anatomopatólogo comparó los hallazgos histológicos de la segunda biopsia con los hallazgos histológicos de la primera biopsia. Esta descripción y comparación se realizó en un informe anatomopatológico que quedó registrado en la historia clínica de la paciente.

Se consideró mejoría anatomopatológica cualquiera de las siguientes características:

1. Disminución del infiltrado inflamatorio reflejado con la detección de linfocitos T y mastocitos con técnicas inmunohistoquímicas, y eosinófilos.
2. Reducción de signos indirectos y directos de daño epitelial como son la hiperqueratosis, hipergranulosis, acantosis, paraqueratosis, atrofia epidérmica,

fibrosis subepitelial, queratinocitos apoptóticos y melanófagos.

3.8.2. Medida de la afectación macroscópica y de los síntomas

Para la valoración de los síntomas del LEV y de la afectación macroscópica, utilizamos el sistema de puntuación clínica para el LEV (CSS) (Anexo 1).

La mejoría sintomática vino definida por un descenso en la puntuación de la escala lineal para cada ítem (prurito, dolor, quemazón y dispareunia) mientras que la macroscópica vino definida por una mejoría en los grados de afectación.

3.8.3. Medida de la elasticidad

La elasticidad es la propiedad de un cuerpo sólido para recuperar su forma cuando cesa la fuerza que la altera.

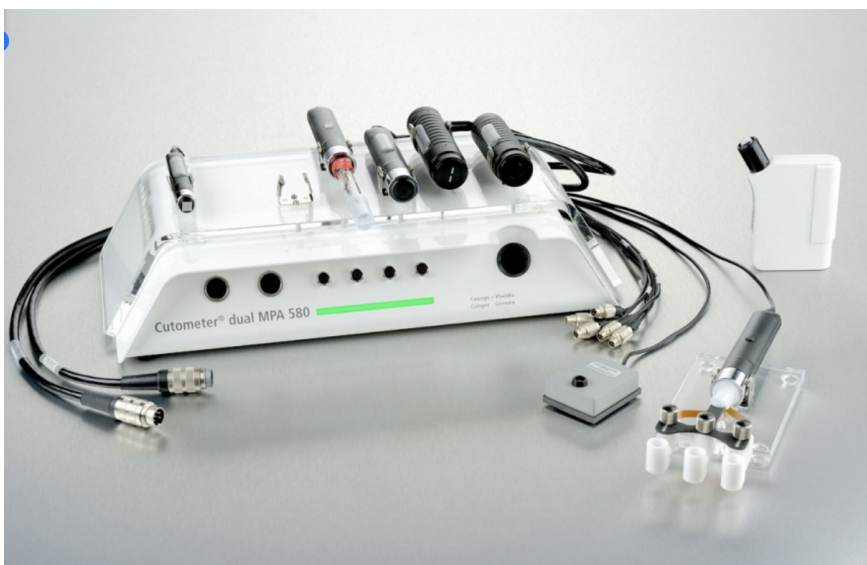


Fig. 14 Cutometer-dual-mpa®

En este estudio la elasticidad se midió mediante el analizador de piel para investigación Cutometer-dual-mpa® (Fig. 14). Cabe reseñar que es una prueba completamente indolora.

Previamente, se descontaminó la zona a cada paciente mediante la aplicación de una gasa empapada en clorhexidina acuosa al 2% para después colocar la sonda del Cutometer-dual-mpa® (Fig. 15) en una de las zonas afectadas, (no-



Fig.15. Sonda Cutometer-dual-mpa®

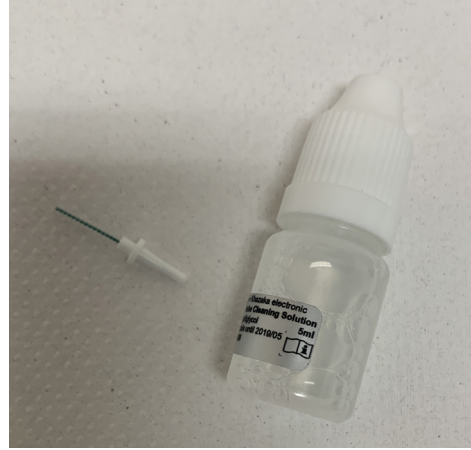


Fig. 16. Solución y el cepillo para desinfección sonda.

sotros escogimos el capuchón del clítoris por ser más accesible en principio). Dicha sonda se mantuvo durante el tiempo que duró la medición (8 segundos). La sonda se desinfectó siempre con la solución y el cepillo indicados por el fabricante del Cutometer-dual-mpa® antes y después de cada paciente (Fig. 16).

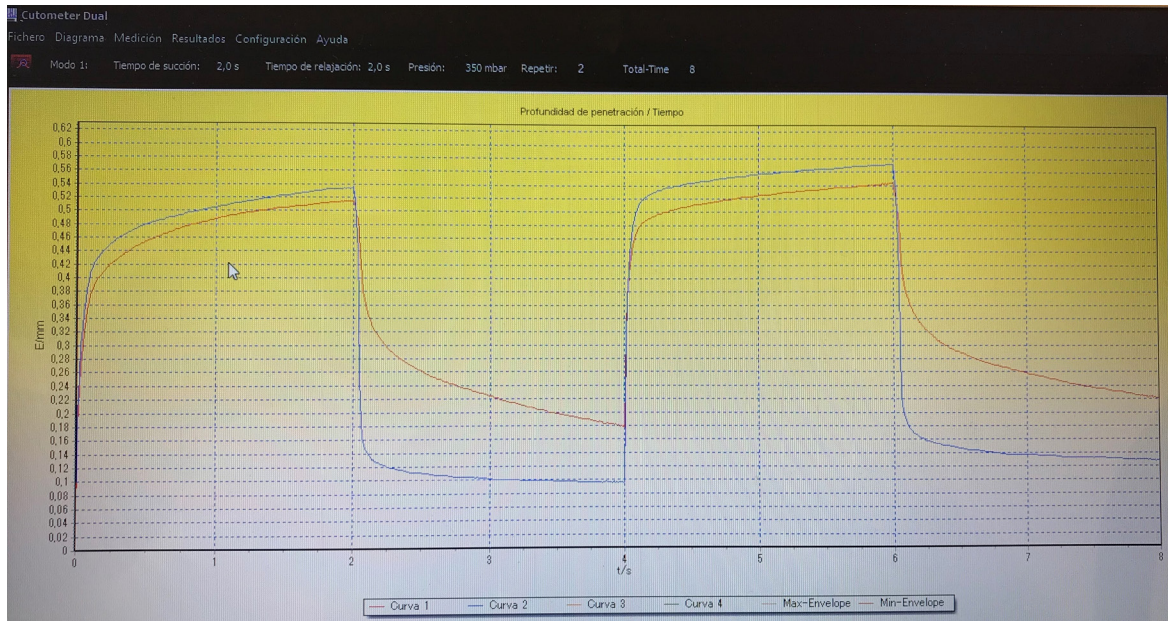


Fig.17A Curvas medición elasticidad con el Cutometer-dual-mpa®

Cutometer Dual				
Fichero Diagrama Medición Resultados Configuración Ayuda				
Modo 1: Tiempo de succión: 2,0 s Tiempo de relajación: 2,0 s Presión: 350 mbar Repetir: 2 Total-Time 8				
Resultados	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4
R0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
R1	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
R2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
R3	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
R4	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
R5	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
R6	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
R7	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
R8	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
R9	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
F0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
F1	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
F2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
F3	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
F4	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
Q0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
Q1	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
Q2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
Q3	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000

Fig. 17B Parámetros medición en paciente con LEV

Los resultados obtenidos, aparecieron tanto como gráficos mostrando curvas de succión-relajación (Fig. 17A) como en datos numéricos (Fig. 17B).

Parámetros relativos	Parámetros absolutos	Unidades	Descripción
R0	= U_f	mm	Máxima deformación de la piel (extensibilidad)
R1	= $U_f - U_a$	mm	Capacidad de la piel para recuperar su estado original a un tiempo definido t
R2	= U_a / U_f	%	Proporción de la retracción final a un tiempo t con respecto a la deformación máxima (elasticidad total)
R5	= U_r / U_e	%	Proporción de la región elástica perteneciente a la fase de relajación con respecto a la región elástica de la fase de succión (elasticidad neta)
R6	= U_v / U_e	%	Proporción de la región viscoelástica con respecto a la elástica
R7	= U_r / U_f	%	Proporción de la recuperación elástica con respecto a la deformación máxima
R8	= U_a	mm	Retracción final a un tiempo t

Fig. 18 Significado de los parámetros de mayor relevancia medición con el Cutometer-dual-mpa®

Para los análisis de elasticidad, tomamos los valores R0 (extensibilidad), R2 (elasticidad bruta), R5 (elasticidad neta) y R6 (viscoelasticidad) (Fig.18) por ser los más relevantes para nuestro estudio.

La mejoría de la elasticidad vino definida por un acercamiento de los valores medidos en cada visita al valor 1 y al hallazgo de diferencias estadísticamente significativas entre las pacientes control y las pacientes tratadas para cada una de las visitas.

3.8.4. Medida del Prurito adicional (Escala 5D)

En cada visita, se evaluó el prurito padecido por las pacientes durante las 2 semanas previas mediante la escala 5D (Anexo 2) para así analizar las 5 dimensiones de dicho síntoma (duración, grado, intensidad, incapacitación y distribución). Se evaluó el impacto del prurito durante el sueño, el ocio, trabajos en casa o recados y en el trabajo. En esta escala, las puntuaciones varían desde 0 (ausencia de efecto) hasta 28 (efecto máximo en duración, grado, dirección e impacto en las actividades normales).

La mejoría del prurito vino definida por una disminución en la escala empleada respecto al basal.

3.8.5. Medida de la calidad de vida mediante la escala Skindex-29

Se pasó a las pacientes la escala Skindex- 29 que es un instrumento de calidad de vida (CV) específico de enfermedades dermatológicas (Anexo 3) para evaluar el impacto de la enfermedad (LEV) en las cuatro semanas previas.

Cada ítem tiene una escala de respuesta tipo Likert con 5 posibles opciones (0=nunca, 1=raramente, 2=a veces, 3= a menudo, 4=todo el tiempo). Los puntajes altos indicaron peor calidad de vida.

La puntuación de cada dimensión se obtuvo transformando la suma de las respuestas en una escala lineal de 100, variando desde 0 (ausencia de impacto en la calidad de vida relacionada con la salud), a 100 (máximo impacto en la calidad de vida relacionada con la salud). Se obtuvo una puntuación global mediante la misma transformación.

Se evaluó el impacto de LEV en la calidad de la calidad de vida tanto global como en cada dimensión y la mejoría vino definida por la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre las pacientes control y las pacientes tratadas.

3.8.6. Medida de la función sexual.

Se pasó el cuestionario para evaluar la función sexual en las 4 semanas previas a la visita correspondiente. Mediante este cuestionario (Anexo 4) se evaluó la mejora de la actividad sexual (caricias, juegos sexuales, masturbación y relaciones sexuales) a través de las respuestas a los 19 ítems divididos en seis dominios (deseo, excitación, lubricación, orgasmo, satisfacción y dolor).

La mejoría del índice de función sexual tanto global como en cada dominio, vino definida por la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre las pacientes control y las pacientes tratadas.

3.8.7. Evaluación de los eventos adversos derivados del tratamiento.

El acontecimiento adverso (AA) vino definido por cualquier incidencia perjudicial para la salud en un paciente o sujeto de ensayo clínico tratado con un medicamento, aunque no tuviera necesariamente relación causal con dicho tratamiento.

Un AA puede ser, por tanto, cualquier signo desfavorable y no intencionado (incluyendo un hallazgo anormal de laboratorio), síntoma o enfermedad temporalmente asociada con el uso de un medicamento en investigación, estuviera o no relacionado con el medicamento en investigación.

Cualquier signo, síntoma o alteración de las pruebas complementarias que requirió ajustar la dosis, interrumpir transitoria o permanente el medicamento en investigación o cualquier tipo de intervención para valorar el riesgo asociado para el sujeto se recogió como AA. También se incluyeron como AA la exacerbación o agravamiento de cualquier condición presente en el momento de la inclusión. Los efectos adversos derivados del tratamiento se recogieron en cada una de las visitas de cada paciente.

También se consideraron graves los AA que, a cualquier dosis pudieron provocar la muerte, amenazar la vida del sujeto, requerir la hospitalización del paciente o prolongar una hospitalización existente, provocar invalidez o incapacidad permanente o importante, o dar lugar a una anomalía o malformación congénita. Adicionalmente, se consideraron graves aquellas sospechas de AA o RA importantes desde el punto de vista médico, aunque no cumplieran los criterios anteriores, incluyendo los acontecimientos médicos importantes que requirieron una intervención para evitar que se produjera una de las consecuencias anteriormente descritas. Asimismo, se notificaron como graves todas las sospechas de transmisión de un agente infeccioso a través de un medicamento.

El concepto “amenazar la vida del sujeto” en la definición se refiere a que, en opinión del investigador, el paciente en el momento del AA o RA estuviera en riesgo real de muerte; no se refiere a que el AA/RA hipotéticamente pudiera haber ocasionado la muerte en caso de haber sido más intenso.

El concepto “requerir hospitalización” excluyó tanto las hospitalizaciones planeadas para tratamientos programados como las que hubieron sido planificadas o que se previeron antes de comenzar el estudio en relación con una situación médica preexistente.

Reacción Adversa Inesperada (RAI) fue cualquier RA cuya naturaleza, intensidad o consecuencias no se correspondiera con la información de seguridad de referencia.

Reacción Adversa Grave e Inesperada (RAGI) fue una RAG (definida previamente), cuya naturaleza, gravedad o consecuencias no se correspondiera con la información de seguridad de referencia.

Según los criterios de causalidad los acontecimientos adversos se clasificaron en:

- **AA relacionado:** La relación temporal del AA con la medicación en estudio indica una relación causal posible y no puede ser explicado por factores tales como el estado clínico del paciente, intervenciones terapéuticas.
- **AA no relacionado:** La relación temporal del AA con la medicación del estudio indica una relación causal improbable, o bien otros factores (medicación o condiciones concomitantes), otras intervenciones terapéuticas proporcionan una explicación satisfactoria para el AA.

Según la intensidad y la gravedad de los AA el investigador fue el responsable de la evaluación de la intensidad. El grado de intensidad es una observación clínica y describe la intensidad del acontecimiento según las tres categorías siguientes:

- Leve: Síntomas transitorios, sin interferencia con las actividades diarias del paciente.
- Moderado: Síntomas marcados, interferencia moderada con las actividades diarias del paciente.
- Grave: Interferencia considerable con las actividades diarias del paciente.

Se consideraron AA leves, que no requirieron reporte telefónico inmediato:

- Inflamación o edema de las zonas tratadas.
- Hematomas en las zonas tratadas.
- Sangrado intermitente y leve (manchado) de las zonas tratadas.
- Cambios en la sensibilidad cutánea temporales.
- Irregularidades en el contorno de la piel y asimetrías (normalmente asociado a la liposucción/ lipoinyección de grandes volúmenes de tejido adiposo y a tono pobre de la piel).

Se consideraron AA moderados los que requirieron un reporte telefónico en las primeras 48-72 horas desde la aparición:

- Reacciones alérgicas locales al esparadrapo de papel, material de sutura.
- Inflamación o edema de las zonas tratadas que interfiera de forma moderada con las actividades cotidianas.
- Hematomas o sangrado de las zonas tratadas que interfiera de forma moderada con las actividades cotidianas.
- Seromas o acumulación de fluidos que interfiera de forma moderada con las actividades cotidianas.
- Infección de las zonas tratadas.

Finalmente, los AA graves necesitaron un reporte telefónico en las primeras 24 horas desde la aparición y comprendieron los siguientes signos y síntomas:

- Hemorragia o sangrado franco.
- Inyección intraarterial de tejido adiposo autólogo. Esto puede producir necrosis cutánea de la zona circundante a la inyección. El riesgo y las consecuencias de la inyección intravascular accidental son desconocidos y no predecibles.
- Embolia grasa, ocurre cuando se atrapan gotas de grasa en los pulmones. Es una complicación grave y muy rara del lipofilling. Puede necesitar tratamiento adicional y hospitalización.

Los AA se clasificaron adicionalmente según la causalidad y fue el investigador el responsable de establecer el grado de relación. Para la documentación de la cau-

salidad se usaron los siguientes parámetros según los parámetros de causalidad del sistema WHO-UMC⁷¹ (World Organization Center-Uppsala Monitoring centre):

1. Probable: Buenos motivos y documentación suficiente para suponer una relación causal.
2. Posible: Una relación causal es concebible y no puede descartarse.
3. Improbable: El acontecimiento está lo más probablemente relacionado con una etiología distinta a la medicación en estudio.
4. No relacionado: Buenos motivos y documentación suficiente para excluir una relación causal.
5. Relación causal razonable: Hay una relación causal razonable entre una especialidad médica en investigación y el AA:
 - Secuencia temporal con la administración del fármaco.
 - El acontecimiento puede atribuirse completamente a la administración del medicamento.
 - Acción farmacológica conocida del medicamento.
 - Pruebas específicas disponibles (prueba de alergia positiva, anticuerpos, metabolitos).
 - Como reacción adversa al fármaco en la información del producto (prospecto).
 - Notificado en la bibliografía como una posible reacción adversa.
 - Eliminación de la exposición.
 - Nueva exposición positiva (el acontecimiento reaparece al reiniciar la exposición a la medicación).
 - No explicado de otro modo por el estado clínico del paciente ni la historia médica ni por otros agentes / terapias concomitantes, etc.
6. Sin relación causal razonable: No hay una relación causal razonable entre la especialidad médica en investigación y el AA:
 - No hay secuencia temporal razonable con la administración del fármaco
 - El acontecimiento se explica por varios otros factores tales como el

estado clínico del paciente, la historia médica, la nutrición u otros agentes/ terapias concomitantes.

- La etiología se ha aclarado y no está de ninguna manera relacionada con la medicación.
- No existe motivo para sospechar una relación causal con la medicación y las investigaciones han establecido esto sin dejar ninguna duda razonable.

En cuanto a la evolución del AA, el investigador fue el responsable de la evaluación del resultado. Debieron tenerse en cuenta las siguientes categorías de desenlace y considerar cual fue el estado de la paciente:

- Recuperado sin secuelas: totalmente recuperado o el estado ha vuelto al nivel observado en el nivel inicial.
- Recuperado con secuelas: como resultado del AA, el paciente padece discapacidad / incapacidad persistente y significativa (por ejemplo, se quedó ciego, sordo o paralítico).
- Mejorado, pero aún no recuperado.
- Todavía en curso (no recuperado).
- Muerte.
- Desconocido.

El investigador también fue el responsable de la evaluación de la intensidad. El grado de intensidad es una observación clínica y describe la intensidad del AA según las tres categorías siguientes:

- Leve: Síntomas transitorios, sin interferencia con las actividades diarias del paciente.
- Moderado: Síntomas marcados, interferencia moderada con las actividades diarias del paciente.
- Grave: Interferencia considerable con las actividades diarias del paciente.

3.8 Calendario de visitas y procedimientos.

Todas las visitas tuvieron un periodo ventana de ± 15 días.

Tabla 3A. Calendario de visitas de las pacientes del grupo control.

	Visita 0 - Selección	Visita 1 - Basal	Visita 4 - 1M	Visita 5 - 3M	Visita 6 - 6M	Visita 7 - 7M
Firma HIP y CI	x					
Revisión de criterios de selección	x	x				
Aleatorización		x				
Anamnesis	x					
Analítica	x					
Medida elasticidad	x		x	x	x	x
Toma de fotografía	x	x	x	x	x	x
Escala de afectación histológica		x				x
Escala afecta- ción clínica y macroscópica		x	x	x	x	x
Escala 5D del prurito		x	x	x	x	x
Skindex -29		x	x	x	x	x
Índice de función sexual (IFS)		x	x	x	x	x
Biopsia	x				x	

Tabla 3B. Calendario de visitas de las pacientes del grupo tratamiento

	Visita 0 Selección	Visita 1 Basal	Visita 2 Preanestésica	Visita 3 Tratamiento 1	Visita 4 1M Tratamiento	Visita 5 Tratamiento 2 (3M post tratamiento)	Visita 6 6M	Visita 7 12M
Firma HIP y CI	X							
Revisión de criterios de selección	X	X						
Aleatorización		X						
Anamnesis	X		X					
Analítica	X							
Medida elasticidad	X				X		X	X
Toma de fotografía	X	X			X	X	X	X
Escala de afectación histológica		X						X
Escala afectación clínica y macroscópica		X			X		X	X
Escala 5D del prurito		X			X		X	X
Skindex -29		X			X		X	X
Índice de función sexual (IFS)		X			X		X	X
Biopsia	X						X	
Tratamiento experimental				X		X		

3.9.1. Visita 0 (Selección)

Tuvo lugar durante los meses de marzo, abril, mayo, junio y julio del 2018. Durante esta visita:

- Se firmó en el consentimiento informado (CI)
- Se entregó hoja de información al paciente (HIP).
- Se comprobó que la paciente cumpliera todos los signos de inclusión y ninguno de los de exclusión.
- Se recogieron los siguientes datos de anamnesis:

Fecha de nacimiento, RAM (reacciones adversas medicamentosas), fecha de diagnóstico del LE, tiempo de evolución de la enfermedad desde la aparición hasta el diagnóstico, tiempo de evolución desde el diagnóstico de LE hasta inclusión en el estudio, historia familiar de LE, consumo de alcohol, hábito tabáquico, toma de fármacos de forma habitual, antecedentes personales de enfermedades de transmisión sexual, antecedentes familiares de enfermedades autoinmunes (vitíligo, diabetes mellitus, tiroiditis, alopecia areata, enfermedad inflamatoria intestinal), tratamiento tópico inicial LE y fecha (propionato de clobetasol al 0,05%, Mometasona, existencia de biopsia previa y fecha de la biopsia).

- Se solicitó la siguiente analítica: hemograma, bioquímica, hemostasia, anticuerpos (ANA, anticuerpos antitiroideos, anticélula parietal, antimicrosomales), hormonas tiroideas, reactantes de fase aguda (VSG, PCR), HLA-DQ7 y prueba de embarazo con determinación de beta-HCG en sangre.
- Se tomó una biopsia mediante un punch de 4 mm de una placa de la zona vulvar afectada.
- Se fotografió la zona vulvar afectada.
- Se hizo una medición de la elasticidad.

3.9.2. Visita 1 (Basal)

Tuvo lugar en la medida que se recibieron los resultados solicitados en la visita 0 en tandas de tres pacientes por sesión clínica. Tuvo lugar durante los meses de agosto, septiembre y octubre de 2018. Se revisaron los resultados de las pruebas realizadas en la visita de selección (visita 0).

- Se verificaron de nuevo los criterios de inclusión y de exclusión. Una vez confirmado este punto, posteriormente se procedió a la aleatorización y asignación de cada paciente en el grupo correspondiente (control versus tratamiento).
- Se pasó la escala de afectación histológica: Según los resultados de la biopsia vulvar tomada en la visita 0 (selección) se clasificó a las pacientes en un estadio precoz o avanzado de la escala de afectación histológica del LEV.
- Se pasaron las escalas de afectación sintomática y macroscópica (anexo 1), prurito (anexo 2), calidad de vida Skindex-29 (anexo 3) y de afectación de la función sexual IFS (anexo 4).
- Se procedió a la toma de fotografías de la zona vulvar.

3.9.3. Visita 2 (Pre-anestésica)

Esta visita solo tuvo lugar en las pacientes que tras aleatorización fueron asignadas al grupo de tratamiento experimental. La visita se produjo siguiendo el calendario de citaciones específico de dicha consulta. Tuvo lugar entre septiembre y noviembre de 2018.

En esta visita, las pacientes fueron evaluadas por un anestésico para ver si cumplían con los requisitos de seguridad para ser anestesiadas mediante anestesia local de la zona y sedación superficial con propofol y fentanilo.

3.9.4. Visita 3

Las pacientes asignadas al grupo 2 de tratamiento experimental recibieron el primer tratamiento en esta visita que tuvo lugar en tandas de tres pacientes por sesión quirúrgica entre noviembre y diciembre 2018.

3.9.5. Visita 4 (semana 4)

Esta visita tuvo lugar 1 mes después de la visita basal en las pacientes control y 1 mes posterior a la infiltración del primer tratamiento.

Esta visita fue común en ambos grupos y se realizaron los siguientes procedimientos:

- Se pasaron las escalas de afectación clínica, prurito, calidad de vida y de índice de afectación sexual.
- Se midió la elasticidad.
- Se tomaron fotografías de la zona vulvar.

3.9.6. Visita 5 (semana 12)

Esta visita tuvo lugar 3 meses después de la visita basal en las pacientes control) y 3 meses post infiltración del primer tratamiento.

En el grupo control, esta visita se realizó en consulta:

- Se pasaron las escalas de afectación clínica, prurito, calidad de vida y de índice de afectación sexual.
- Se midió la elasticidad.
- Se tomaron fotografías de la zona vulvar.

En el grupo de tratamiento, esta visita al realizarse en quirófano no se pasaron las escalas de afectación clínica, prurito, calidad de vida ni índice de afectación sexual. Tampoco se midió la elasticidad.

Se procedió a la toma de fotografías de la zona vulvar y a la administración de la 2ª tanda de tratamiento con tejido graso y PRP autólogos.

3.9.7. Visita 6 (semana 24)

Esta visita tuvo lugar 6 meses después de la visita basal en las pacientes control y 6 meses post infiltración del primer tratamiento.

Esta visita es común en ambos grupos.

Se realizaron los mismos procedimientos que en la visita 4:

- Se pasaron las escalas de afectación clínica, prurito, calidad de vida y de índice de afectación sexual.
- Se midió la elasticidad.
- Se tomaron fotografías de la zona vulvar.

Adicionalmente, se les realizó una biopsia en régimen ambulatorio (punch 4mm) bajo anestesia local de una placa de la zona vulvar afectada en las consultas externas de Dermatología y se cerró la oquedad mediante un punto suelto de Vycril rapide 4/0. Las muestras en formol se enviaron la misma mañana al servicio de anatomía patológica para el análisis de los cambios histológicos acontecidos.

3.9.8. Visita 7 (semana 52).

Esta visita tiene lugar 12 meses después de la visita basal en las pacientes control y 12 meses post infiltración del primer tratamiento.

Esta visita fue común para ambos grupos y se realizaron los siguientes procedimientos:

- Se pasaron las escalas de afectación clínica, prurito, calidad de vida y de índice de afectación sexual.
- Se midió la elasticidad.
- Se tomaron fotografías de la zona vulvar.

3.10. Análisis estadístico.

El estudio se consideró como un estudio piloto de 20 pacientes con la intención de generar un cálculo posterior del tamaño muestral para el ensayo clínico aleatorizado prospectivo subsiguiente.

Se evaluaron las diferencias mediante un modelo de regresión lineal incluyendo el valor inicial de elasticidad como covariable. Se estimaron los intervalos de confianza al 95% para todos los resultados de los análisis. Todos los análisis se realizaron mediante el software R (versión 3.4).

Los datos se resumieron mediante media (desviación estándar) y mediana (1º y 3º cuartil) en el caso de variables numéricas y mediante frecuencias absolutas y relativas en el caso de variables categóricas. Para determinar el efecto del tratamiento sobre cada una de las variables respuesta de interés se utilizaron modelos bayesianos de regresión ordinal mixta que incluían una interacción entre un efecto monotónico de las visitas y el grupo de tratamiento. En todos los modelos se utilizaron previas no informativas para los coeficientes de los predictores y se estimaron intervalos de credibilidad al 95% para cada uno de los efectos. Todos los análisis se realizaron mediante el software R (versión 3.6.2) y los paquetes clickR (versión 0.4.45) y brms (versión 2.11.1).

PARTE IV

RESULTADOS

4.1 CARACTERÍSTICAS BASALES Y DEMOGRAFICAS

Se incluyeron un total de 23 pacientes con LEV diagnosticado mediante estudio histológico y clínico a las cuales se les realizó la visita de selección. Se excluyeron 4 candidatas por los siguientes motivos:

- La paciente 1 (LIQ 08) no acudió a la visita.
- La paciente 2 (LIQ 05) tenía un diagnóstico médico que desaconsejaba la sedación en quirófano.
- La paciente 3 (LIQ 09) fue diagnosticada de SIL/CIN (neoplasia Intraepitelial cervical / displasia de bajo grado) con cambios celulares por Virus del Papiloma Humano en la muestra de la citología que se tomó en la vista de selección.
- La cuarta paciente excluida (LIQ 17) pertenecía al grupo tratamiento y aunque había completado la visita preanestésica (V2), rechazó por motivos personales continuar con el estudio.

Finalmente se incluyeron en el estudio un total de 19 pacientes: 10 en grupo control y 9 en grupo de tratamiento.

En la tabla 7 se exponen las características basales de las pacientes incluidas en el estudio.

Tabla 7. Características basales población estudio. Datos expresados como media y DE, N (%)

CARACTERÍSTICAS	GENERAL N=19	GRUPO TRA- TAMIENTO N=9	GRUPO CONTROL N=10	P-VALOR
Edad	55	59	51	0,12
Menopausia si/no	14(74%)	9(90%)	5(56%)	0,1409
Edad de D ^o * (años) Media y DE*	50,3 ± 10,46	40,7 ± 11,92	54,9 ± 6,57	

CARACTERÍSTICAS	GENERAL N=19	GRUPO TRA- TAMIENTO N=9	GRUPO CONTROL N=10	P-VALOR
Duración enfermedad (años) Media y DE*	6,1 ± 3,82	5,9 ± 4,22	5,6 ± 3,5	
ETS* previas	0%	0%	0%	
Consumo alcohol	1(5%)	0%	1(10%)	
Consumo tabaco	4(21%)	1(10%)	3(30%)	
RAM*	5(26%)	1(10%)	4(40%)	
TRATAMIENTO INICIAL				
• Propionato clobetasol > 3 meses	18(95%)	9(90%)	9(90%)	
• Mometasona	2(11%)	0(0%)	2(20%)	
• Otros	6(32%)	2(20%)	4(40%)	

*Dº - Disquótico.

DE - Desviación estándar.

ETS - Enfermedades de transmisión sexual.

RAM - Reacciones adversas medicamentosas.

Dentro de otros tratamientos durante el tratamiento inicial cuando el LEV fue diagnosticado, tan solo 1 paciente había llevado Tacrolimus 0,1% (Protopic©) durante 2 semanas. El resto de las pacientes, llevaba cremas emolientes. Dentro de las RAM, las más frecuentes fueron al metamizol, seguidas de la penicilina.

Ninguna de las variables analizadas como posibles factores modificadores de resultados fue diferente entre ambos grupos, Los resultados demográficos, así como los p-valores obtenidos de la comparación de cada una de las variables en ambos grupos se representan en la tabla 8.

Tabla 8. Resultados demográficos población estudio. Datos expresados como N (%)

	GENERAL	CONTROL	TRATADO
N	19	10	9

	GENERAL	CONTROL	TRATADO
Tiempo D^o* > 6M	19 (100%)	10 (100%)	9 (100%)
Tiempo D^o-inclusión en estudio > 6M	19 (100%)	10 (100%)	9 (100%)
HLA-DQ 7	10 (53%)	3 (30%)	7 (78%)
ANA	8 (42%)	5 (50%)	3 (33%)
AC*.Pariet	2 (11%)	1 (10%)	1 (11%)
AC. Perox	5(26%)	4 (40%)	1 (11%)
AC. Tiroglob	5(26%)	2 (20%)	3 (33%)
AC. TSH	2 (11%)	0%	2 (22%)
LEV. Extragenital	2 (11%)	2 (20%)	0%
AF*. E*. Autoimmune	11 (58%)	5 (50%)	6 (67%)
AF. LE	1 (5%)	10 (10%)	0%

*AC - Anticuerpos.

D^o - Disquístico.

AF - Antecedentes Familiares.

E - Enfermedad.

El 63% de las pacientes incluidas tenía Ac. Antitiroideos: 26% Antiperoxidasa, 26% Antitiroglobulina y 11% anti TSH.

En el análisis de la existencia de enfermedades autoinmunes en los familiares de primer grado de las pacientes del estudio (tabla 3), casi un 60% presentaban algún tipo de enfermedad autoinmune siendo las más frecuentes las enfermedades tiroideas (33,33%), seguidas de un 8,33% con familiares de primer grado con psoriasis y un 8,33% con antecedentes de colitis ulcerosa.

El antecedente familiar no autoinmune más frecuente fue la diabetes mellitus tipo 2 que se presentó en el 50% de los familiares de primer grado de las pacientes del estudio.

4.2. RESULTADOS DE ANATOMÍA PATOLÓGICA.

En la Fig. 19 se representan los valores basales y post-tratamiento (semana 24) de los marcadores de inflamación agudos (linfocitos T, eosinófilos, mastocitos y linfocitos perivasculares). Dichas variables presentan un descenso en el caso de las pacientes tratadas respecto a las pacientes control. Esta disminución significativa del componente inflamatorio en las pacientes tratadas comparada con las pacientes control, se evidencia sobre todo a nivel de los linfocitos T, (marcados inmunohistoquímicamente con anti-CD3), y eosinófilos intradérmicos.

- Hay un descenso significativo en los valores de Linfocitos T y eosinófilos en las pacientes tratadas con respecto a las pacientes del grupo control.
- El número de mastocitos (revelados con el marcador de CD117) también muestran un ligero descenso no significativo respecto a las pacientes control.
- Los valores de linfocitos dérmicos perivasculares muestran un descenso similar en ambos grupos mayor en el grupo tratamiento.

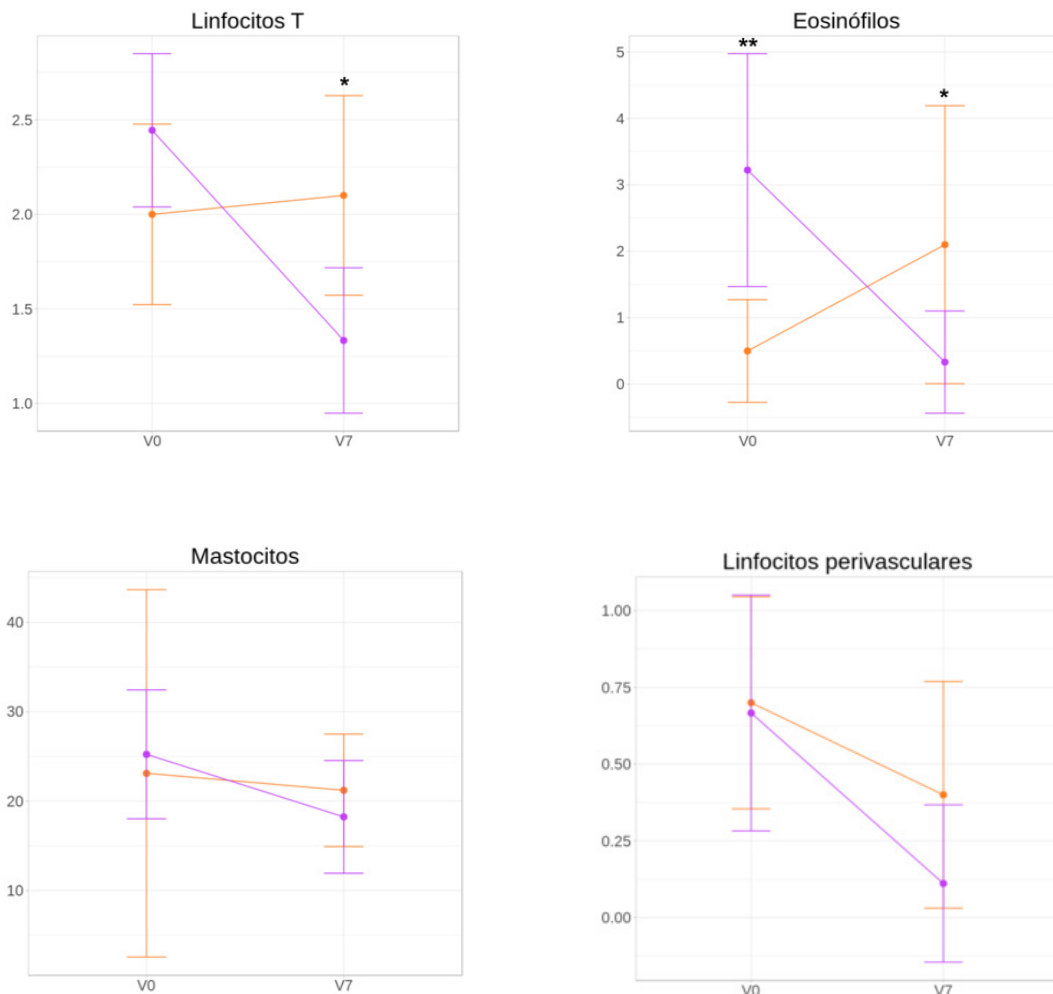


Fig. 19. Linfocitos T, Eosinófilos, mastocitos, y linfocitos perivasculares: Gráfico representando las medias e intervalos de confianza al 95% de variables de anatomía patológica. En estos gráficos el naranja representa las pacientes control y el morado las pacientes tratadas. La significatividad de las diferencias de medias en cada una de las visitas se representa con los siguientes símbolos: *: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$

- La exocitosis no mostró cambios significativos entre los grupos.

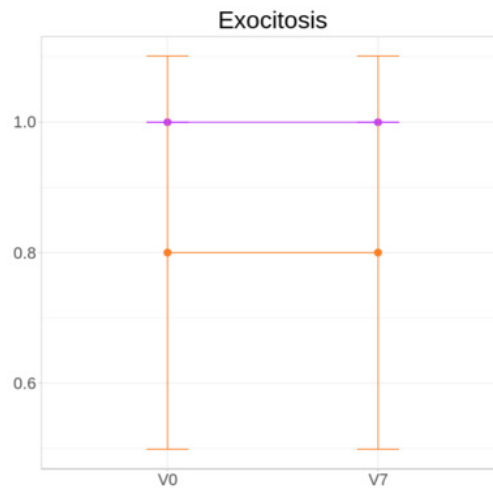
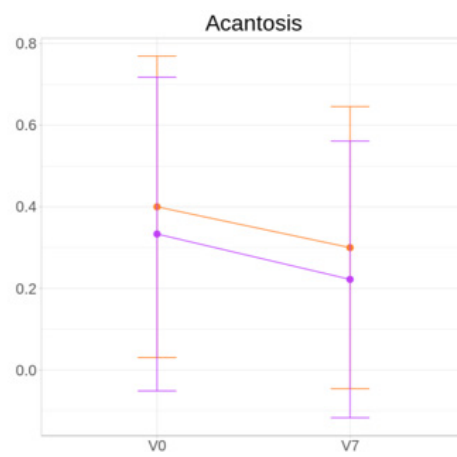
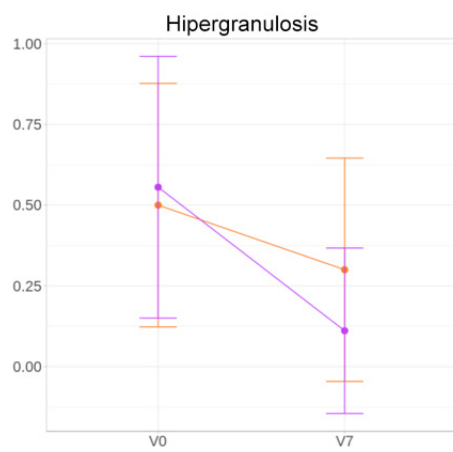
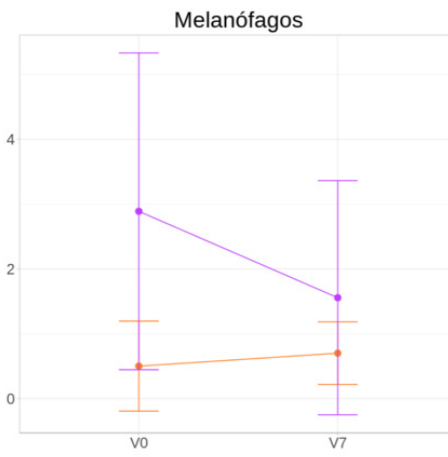
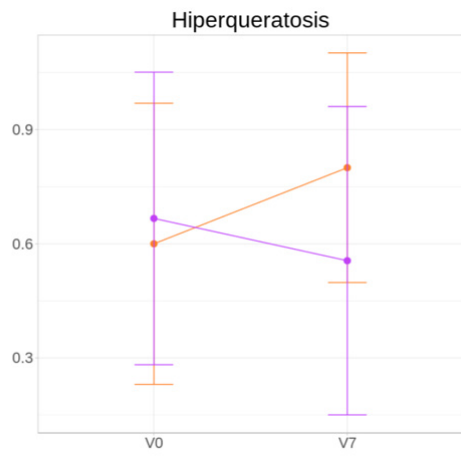
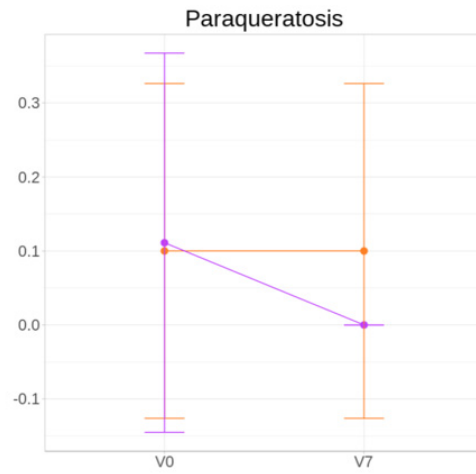
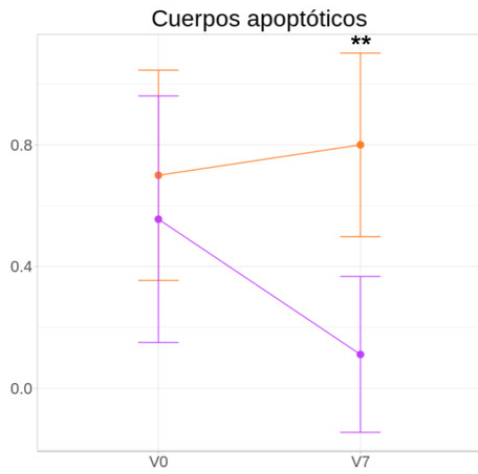


Fig. 20. Exocitosis: Gráfico representando las medias e intervalos de confianza al 95% de variables de anatomía patológica. En estos gráficos el naranja representa las pacientes control y el morado las pacientes tratadas. La significatividad de las diferencias de medias en cada una de las visitas se representa con los siguientes símbolos: *: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$

- En la figura 21 se muestra la reducción de los marcadores de lesión crónicas directos e indirectos (cuerpos apoptóticos, paraqueratosis, hiperqueratosis, melanófagos, hipergranulosis, acantosis, atrofia epidérmica y fibrosis subepitelial). Dichos marcadores de lesión crónica están disminuidos en los pacientes tratados frente a los controles.

- Esta disminución es significativa en el caso de los cuerpos apoptóticos. Sin embargo, las variables atrofia epidérmica y fibrosis subepitelial (Fig. 21) muestran un incremento a lo largo del estudio en ambos grupos, aunque sin mostrar diferencias significativas.



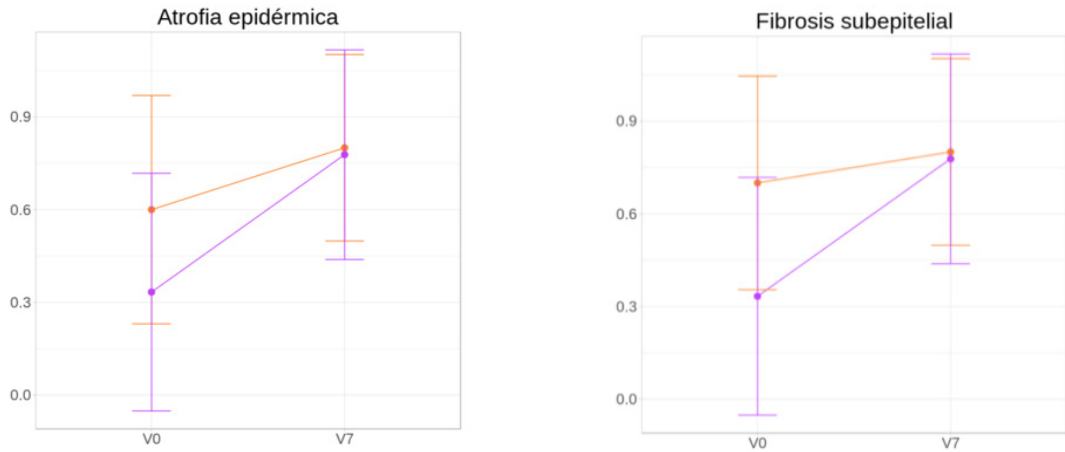


Fig. 21. Marcadores crónicos de lesión. Gráfico representando las medias e intervalos de confianza al 95% de variables de anatomía patológica. En estos gráficos el naranja representa las pacientes control y el morado las pacientes tratadas. La significatividad de las diferencias de medias en cada una de las visitas se representa con los siguientes símbolos: *: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$

4.3. RESULTADOS DE SÍNTOMAS Y AFECTACIÓN MACROSCÓPICA.

Cuando consideramos todos los síntomas y signos físicos en conjunto aparecen diferencias significativas entre el grupo control y tratamiento a partir de la visita 4. En el grupo tratamiento esta mejoría significativa tiene lugar desde la visita 4 (1 mes post primer tratamiento) y se mantiene hasta el final del estudio tal como se aprecia en la Fig. 22 A y B.

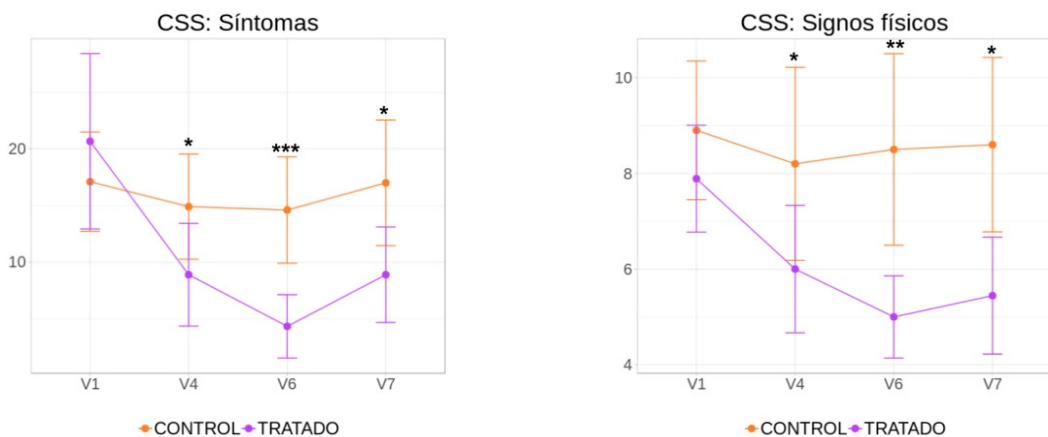


Fig. 22 A y B Afectación sintomática y macroscópica: Gráfico representando las medias e intervalos de confianza al 95% de los datos de afectación clínica a lo largo de las visitas. En estos gráficos el naranja representa las pacientes control y el morado las pacientes tratadas. La significatividad de las diferencias de medias en cada una de las visitas se representa con los siguientes símbolos: +: $p \leq 0.1$; *: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$

Si procedemos a analizar los síntomas por separado (Fig. 23 A, B, C y D), vemos que:

- Dolor: existen diferencias significativas entre el grupo control y tratamiento en la visita 4 y 6. Además, podemos observar un descenso significativo del dolor a partir de la visita 4.
- Prurito: existe una diferencia significativa entre el grupo control y tratamiento en la visita 4, observándose un descenso significativo del prurito entre la visita 1 y las siguientes.
- Quemazón y dispareunia: estos síntomas presentan diferencias significativas entre ambos grupos en la visita 6 y 7 observándose un descenso significativo en el grupo de las pacientes tratadas a partir de la visita 1.

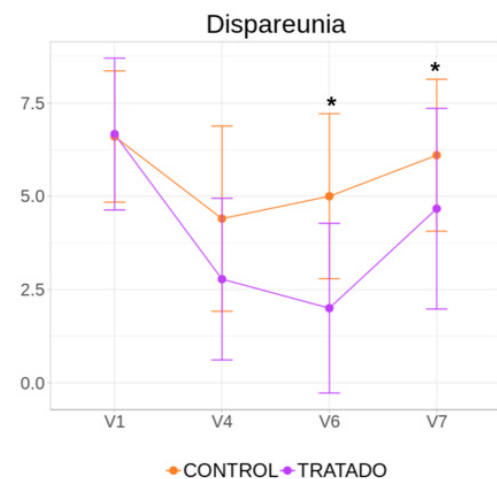
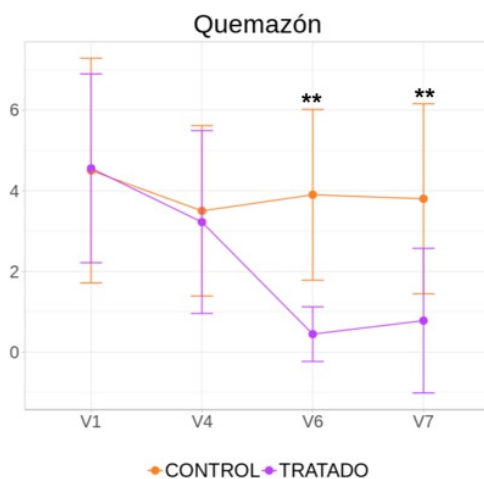
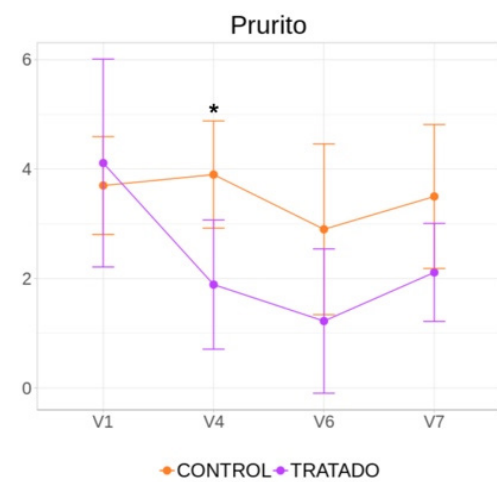
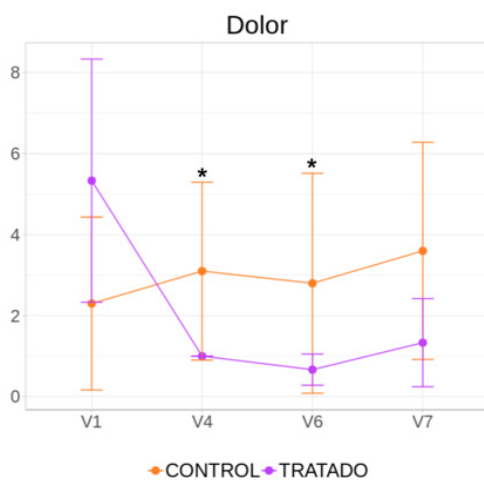


Fig. 23 A, B, C y D: Dolor, prurito, quemazón y dispareunia: Gráfico representando las medias e intervalos de confianza al 95% de los datos de afectación clínica a lo largo de las visitas. En estos gráficos el naranja representa las pacientes control y el morado las pacientes tratadas. La significatividad de las diferencias de medias en cada una de las visitas se representa con los siguientes símbolos: +: $p \leq 0.1$; *: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$

En cuanto a los signos físicos observamos que tanto las erosiones como las fisuras presentan diferencias significativas entre las pacientes del grupo control y del grupo tratamiento desde la visita 6 hasta el final del estudio, presentando las pacientes tratadas un descenso significativo de ambas desde la visita 1 (Fig. 23E, F).

Por el contrario, la hiperqueratosis, reabsorción, estenosis y atrofia no presentaron diferencias significativas entre ambos grupos (Fig. 23 G, H, I, J).

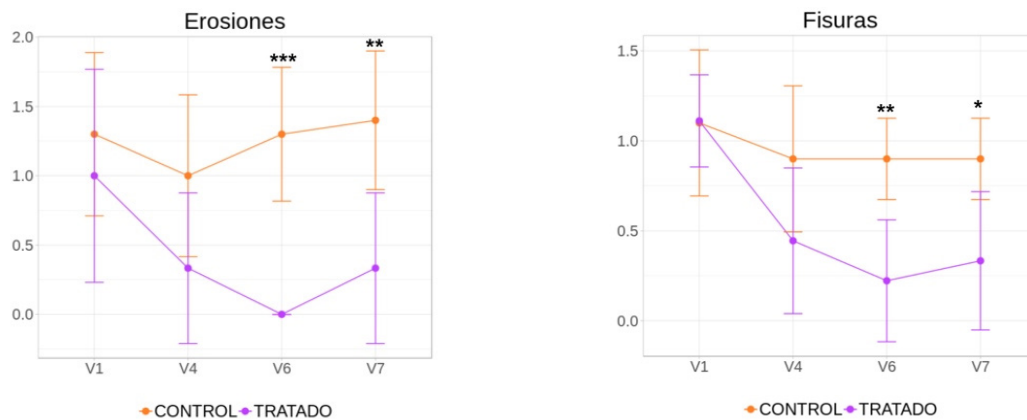


Fig. 23 E, F: Erosiones y fisuras: Gráfico representando las medias e intervalos de confianza al 95% de los datos de afectación clínica a lo largo de las visitas. En estos gráficos el naranja representa las pacientes control y el morado las pacientes tratadas. La significatividad de las diferencias de medias en cada una de las visitas se representa con los siguientes símbolos: +: $p \leq 0.1$; *: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$

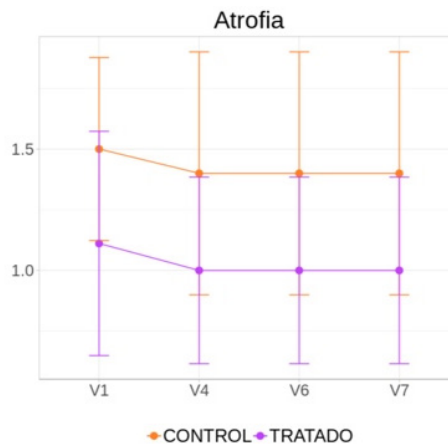
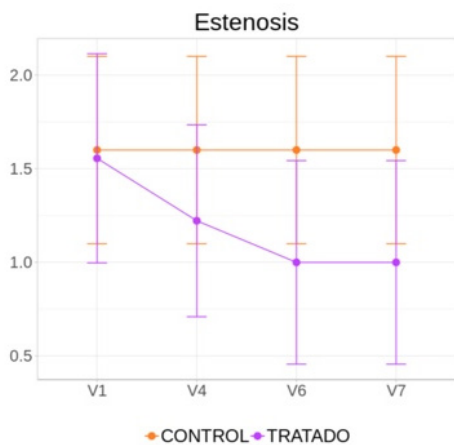
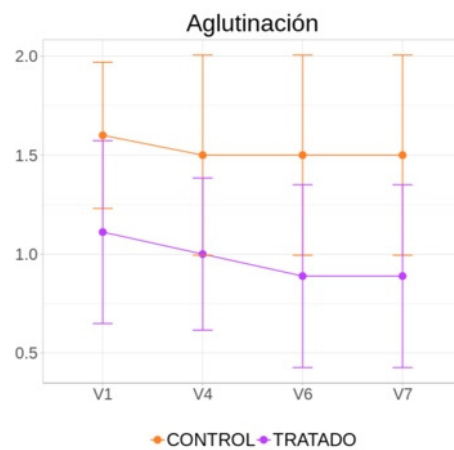
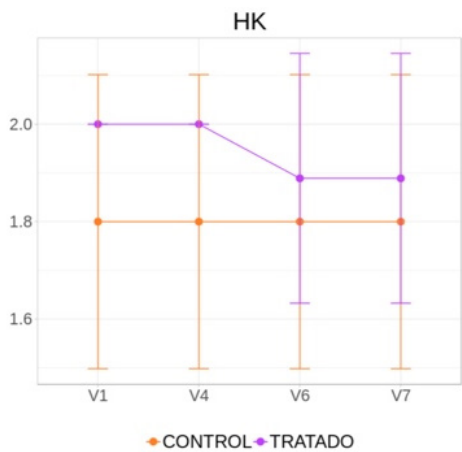


Fig. 23 G, H, I, J: Hiperqueratosis, reabsorción o aglutinación, estenosis, atrofia: Gráfico representando las medias e intervalos de confianza al 95% de los datos de afectación clínica a lo largo de las visitas. En estos gráficos el naranja representa las pacientes control y el morado las pacientes tratadas. La significatividad de las diferencias de medias en cada una de las visitas se representa con los siguientes símbolos: +: $p \leq 0.1$; *: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$

A continuación, se muestran varias imágenes del aspecto macroscópico pre y post tratamiento (a los 12 meses) en 3 pacientes del grupo de tratamiento (Fig. 24 paciente A, B, C). En estas fotografías se puede apreciar una menor palidez e incluso casi desaparición de las placas blanquecinas junto con cierta recuperación arquitectural en labios menores y mayores. Estos cambios macroscópicos se correlacionaron con una disminución significativa de la puntuación del ítem de hematomas/flictenas hemorrágicas y sangrado con las relaciones sexuales.



Fig. 24A. Paciente 1. Aspecto macroscópico tras dos infiltraciones de tejido graso autólogo y PRP.



Fig. 24B. Paciente 2. Aspecto macroscópico tras dos infiltraciones de tejido graso autólogo y PRP.



Fig. 24C. Paciente 3. Aspecto macroscópico tras dos infiltraciones de tejido graso autólogo y PRP.

A continuación, se muestran varias imágenes del aspecto macroscópico basal y en la semana 52 en 3 pacientes del grupo control (Fig. 25 A, B y C). A diferencia de las anteriores, observamos que las lesiones macroscópicas se mantienen constantes en las pacientes control a lo largo de todas las visitas. Incluso se puede visualizar un mayor número de flictenas hemorrágicas o mayor extensión de las placas blanquecinas.



Fig. 25A Paciente 1. Aspecto macroscópico paciente control. 1 año de evolución.



Fig. 25B Paciente 2. Aspecto macroscópico paciente control. 1 año de evolución.



Fig. 25C Paciente 3. Aspecto macroscópico paciente control. 1 año de evolución.

4.4 RESULTADOS ELASTICIDAD

La mayoría de las variables medidas mediante el Cutometer-dual-mpa® (R0, R2, R5, R6) no presentaron diferencias significativas entre las pacientes del grupo control y las pacientes tratadas en las diferentes visitas de forma individual (Fig. 26).

- En las variables R0 (extensibilidad máxima), y R2 (elasticidad bruta) se observa que las medias en la primera visita son prácticamente iguales entre ambos grupos y no hay diferencias significativas a lo largo de las visitas.
- Las variables R5 (elasticidad neta) y R6 (viscoelasticidad) apenas sufren variaciones a lo largo del estudio salvo los valores de viscoelasticidad que son significativos en el grupo tratamiento en la semana 24.

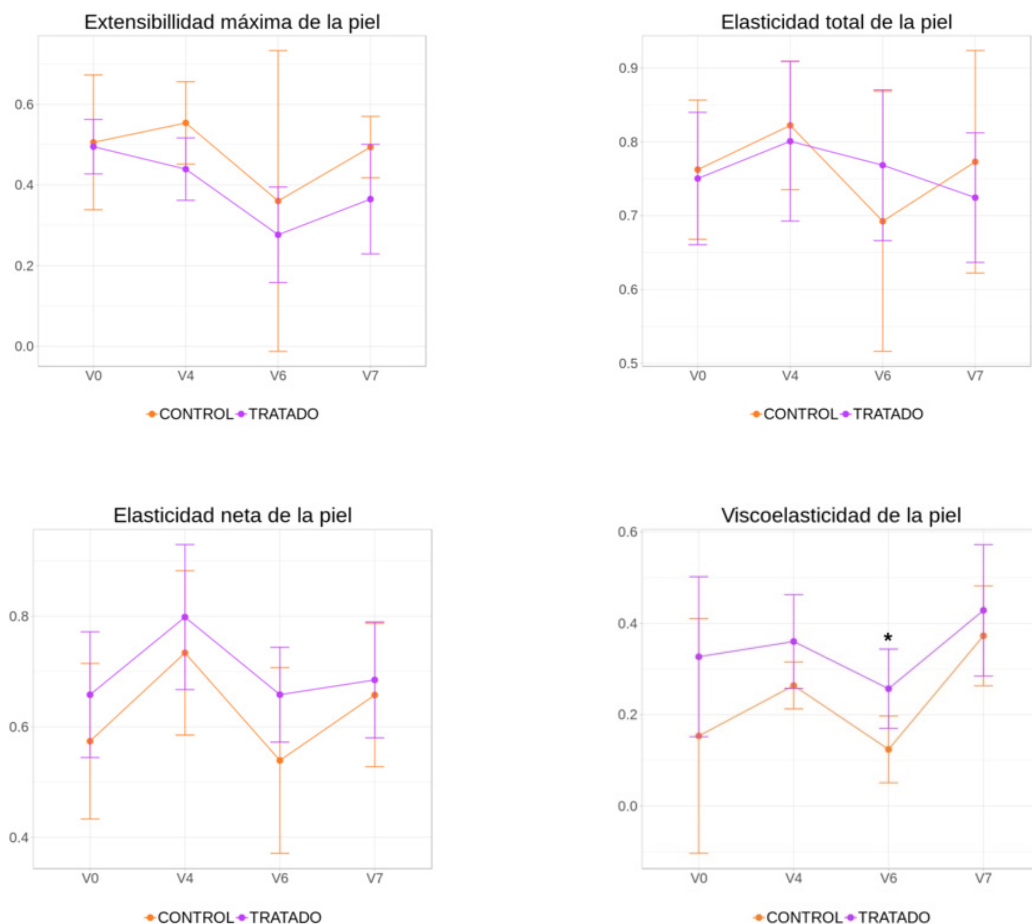


Fig. 26: Gráfico representando las medias e intervalos de confianza al 95% de las variables medidas mediante el Cutometer-dual-mpa® a lo largo de las visitas. En estos gráficos el naranja representa las pacientes control y el morado las pacientes tratadas. La significatividad de las diferencias de medias en cada una de las visitas se representa con los siguientes símbolos: +: $p \leq 0.1$; *: $p \leq 0.05$

4.5. RESULTADOS DE PRURITO (ESCALA 5D)

En el caso de la escala de prurito, tampoco hubo diferencias significativas en los valores basales de ambos grupos. La disminución del prurito fue significativamente mayor en las pacientes tratadas que en las pacientes del grupo control desde la semana 4 tras la primera dosis de tratamiento y a los tres meses tras la segunda dosis de tratamiento, pero no al año, momento en el que se pierde de nuevo la significatividad estadística e incluso aumenta el prurito (Fig. 27).

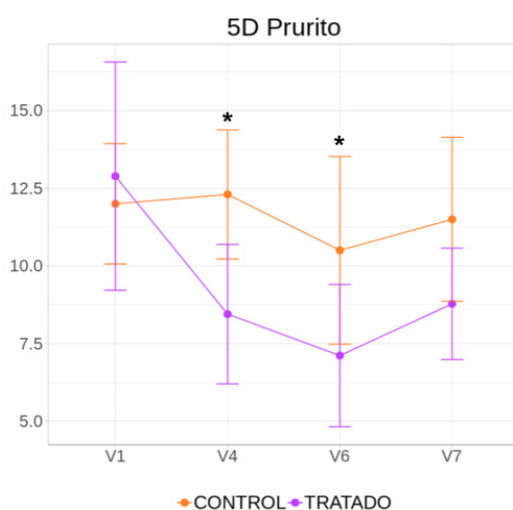


Fig. 27. Prurito: Gráfico representando las medias e intervalos de confianza al 95% de los datos de 5D prurito a lo largo de las visitas. En estos gráficos el naranja representa las pacientes control y el morado las pacientes tratadas. La significatividad de las diferencias de medias en cada una de las visitas se representa con los siguientes símbolos: +: $p \leq 0.1$; *: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$

4.6. CALIDAD DE VIDA MEDIANTE LA ESCALA SKINDEX-29.

El comportamiento a nivel de SKINDEX-29 entre las pacientes tratadas y las pacientes control es muy similar al observado en la variable 5D prurito y dolor.

Una mejor calidad de vida se traduce por una menor puntuación (valores más bajos) en la escala Skindex-29 (Fig. 28).

Partimos de valores similares y la mejoría de la calidad de vida fue significativamente mayor en las pacientes tratadas que en las pacientes control y se mantiene así a lo largo de todo el estudio.

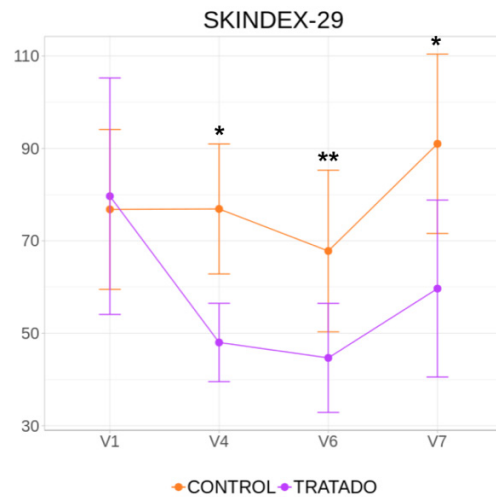
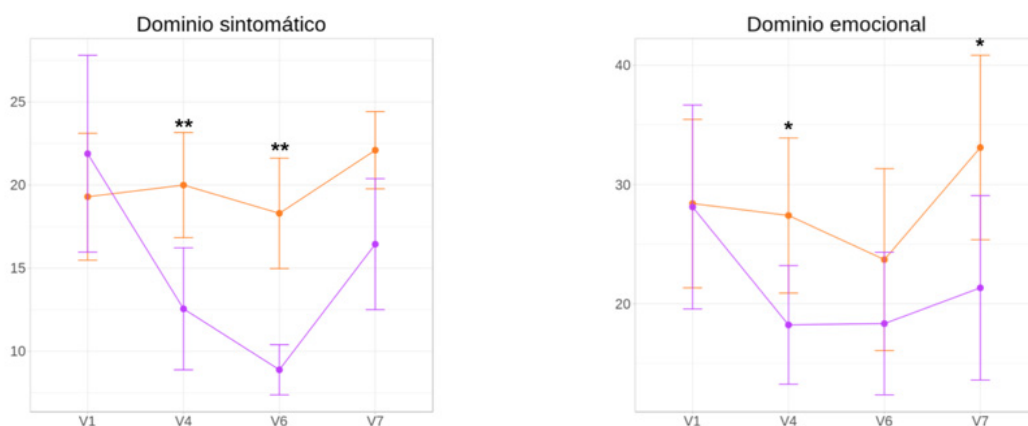


Fig. 28: Gráfico representando las medias e intervalos de confianza al 95% de los datos de SKINDEX-29 a lo largo de las visitas. En estos gráficos el naranja representa las pacientes control y el morado las pacientes tratadas. La significatividad de las diferencias de medias en cada una de las visitas se representa con los siguientes símbolos: *: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$

A continuación, representamos la variable calidad de vida mediante la escala calidad de vida Skindex-29 agrupando las respuestas por los diferentes dominios: sintomático, emocional y funcional (Fig. 29 A, B, C). Podemos observar que en los tres dominios (sintomático, emocional y funcional) se parte de valores similares y se observa una mejora global en las pacientes tratadas frente a las pacientes control, que sin embargo se minimiza al año de tratamiento.



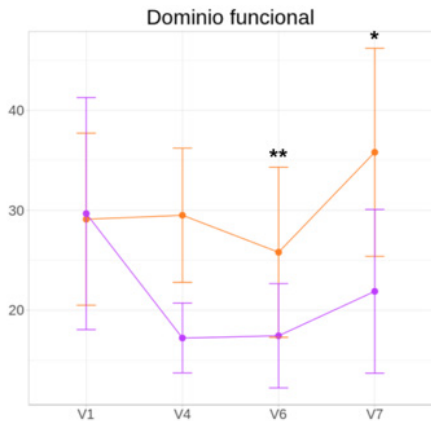


Fig. 29 A, B, C Dominio sintomático, emocional y funcional: Gráfico representando las medias e intervalos de confianza al 95% de los datos de SKININDEX-29 a lo largo de las visitas. En estos gráficos el naranja representa las pacientes control y el morado las pacientes tratadas. La significatividad de las diferencias de medias en cada una de las visitas se representa con los siguientes símbolos: *: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$

En la Fig. 30 representamos los resultados asociados a la variabilidad de las pacientes en las dos primeras componentes del PCA y observamos que se pueden distinguir claramente ambos grupos: Las pacientes tratadas se agrupan arriba a la derecha y las controles abajo a la izquierda. Esto nos indica que tienen resultados distintos para cada uno de los ítems del SKININDEX-29 y que estos comportamientos son homogéneos para cada grupo de pacientes tratadas y control.

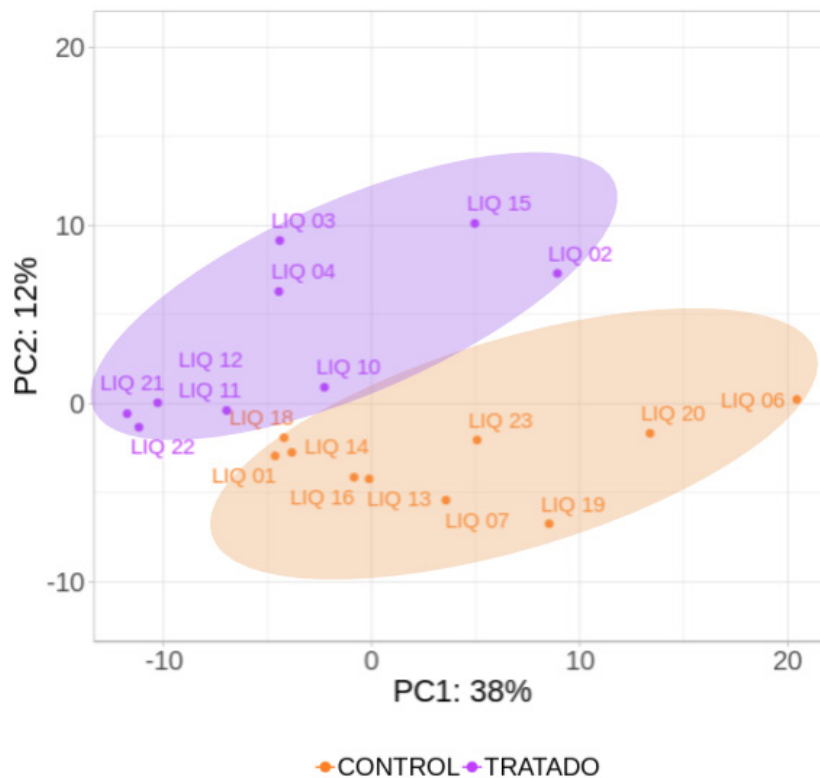


Fig. 30 Variabilidad: Resultados del análisis de componentes principales para las dos primeras componentes que explican un 50% de la variabilidad encontrada entre las muestras. Los puntos naranjas representan a las pacientes control y los puntos morados a las pacientes tratadas. Las elipses indican los grupos definidos según la separación dada por la variabilidad explicada por las dos primeras componentes del PCA (Análisis de componentes principales).

4.7. RESULTADOS DE INDICE DE FUNCION SEXUAL.

Puntuaciones bajas en la función sexual son indicativas de disfunción sexual. Hay autores que ponen el punto de corte en una puntuación global menor de 26 para hablar de disfunción sexual en LEV.

La función sexual de las pacientes control se mantiene constante y por debajo de una puntuación global de 10 sobre 36 (puntuación máxima) durante todo el periodo del estudio indicativo de que no hay mejora de dicha función (Fig. 31). Sin embargo, en las pacientes tratadas hay una mejora significativa de la función sexual a partir de la semana 24 que se mantiene a lo largo del periodo del estudio.

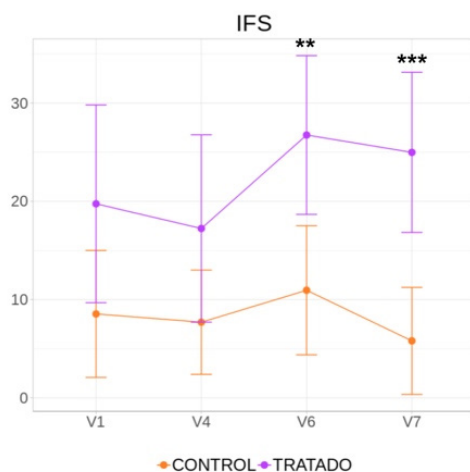


Fig. 31 IFS (Índice de Función Sexual): Gráfico representando las medias e intervalos de confianza al 95% de los datos de IFS a lo largo de las visitas. En estos gráficos el naranja representa las pacientes control y el morado las pacientes tratadas. La significatividad de las diferencias de medias en cada una de las visitas se representa con los siguientes símbolos: +: $p \leq 0.1$; **: $p \leq 0.01$; ***: $p \leq 0.001$

En la figura 32 representamos los resultados asociados a la variabilidad de las pacientes en las dos primeras componentes del PCA y observamos que se pueden distinguir claramente ambos grupos con algunas excepciones.

A la derecha vemos un grupo formado principalmente por pacientes tratadas, sin embargo, la paciente LIQ 16 (paciente control) se agrupa con ellas, indicando que tiene un comportamiento parecido a las pacientes tratadas en su respuesta al IFS, es decir, tiene mayor actividad sexual que el resto de sus compañeras del grupo control.

A la izquierda tenemos un grupo formado principalmente por las pacientes control, con la excepción de las pacientes LIQ 02 y LIQ 15 que fueron tratadas, pero se comportan como controles en su respuesta a las preguntas del IFS.

Vemos que todas las pacientes del grupo tratamiento tienen un mayor índice de actividad sexual que las controles, exceptuando la paciente LIQ 02 y LIQ 15 (pacientes del grupo tratamiento que se comportan como pacientes del grupo control en cuanto a IFS). Adicionalmente, hay que tener en cuenta que no es por visita, sino incluyendo todas las visitas en el análisis.

Sin embargo, la paciente LIQ 16 tiene un IFS y más o menos constante en todas las visitas, este dato se interpreta como que mantuvo su actividad sexual constante a lo largo del periodo del estudio.

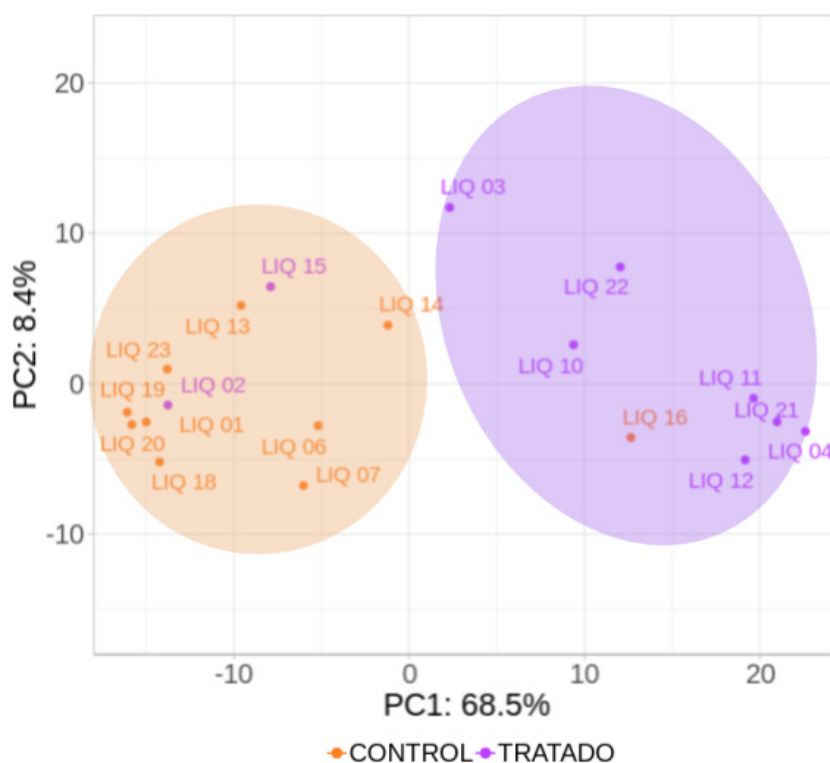


Fig. 32. Variabilidad IFS: Resultados del análisis de componentes principales para las dos primeras componentes que explican un 76.9% de la variabilidad encontrada entre las muestras. Los puntos naranjas representan a las pacientes control y los puntos morados a las pacientes tratadas. Las elipses indican los grupos definidos según la separación dada por la variabilidad explicada por las dos primeras componentes del PCA (Análisis de componentes principales).

Cuando analizamos el IFS de estas pacientes del grupo tratamiento (LIQ 2 y LIQ 15) que se comportan como pacientes del grupo control, vemos que su índice de función sexual aumenta a lo largo de las visitas de forma no significativa, para luego descender, aunque por encima de valores basales (Fig. 33).

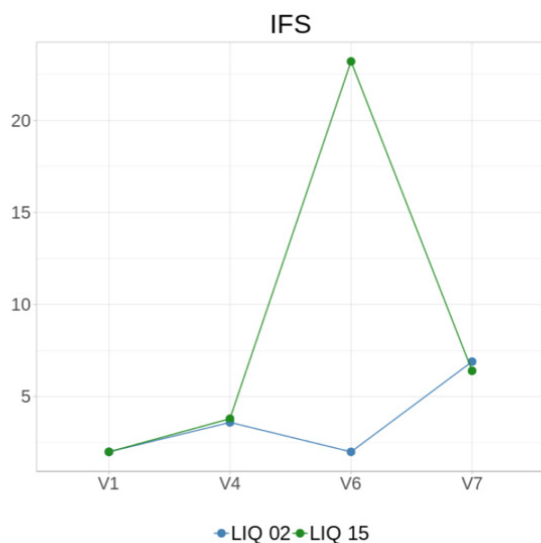
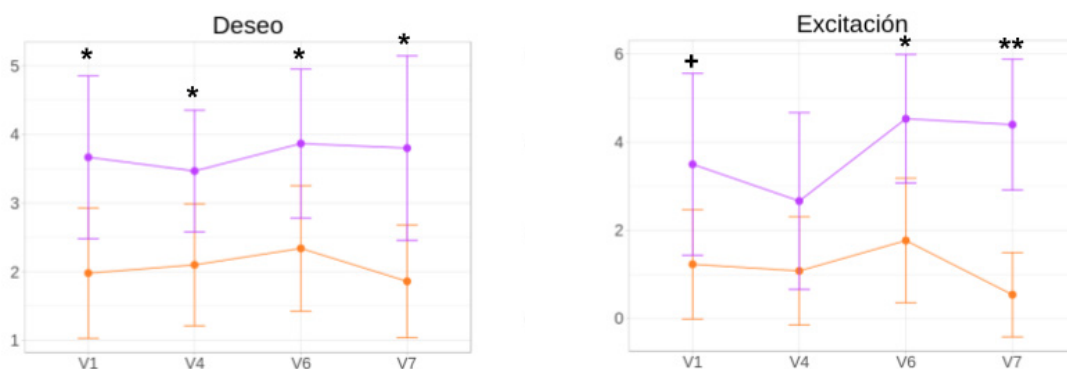


Fig. 33 IFS en LIQ 02 y LIQ 15. Pacientes del grupo tratamiento que se comportan como pacientes del grupo control.

En la figura 34 se expresa el comportamiento de cada grupo en cada visita, con los ítems agrupados en 6 grupos: deseo, excitación, lubricación, orgasmo, satisfacción y dolor.

El deseo y la excitación previo al tratamiento fue significativamente mayor en el grupo de tratamiento. Pero estas diferencias se mantuvieron a lo largo del estudio, siendo estadísticamente mayor en el grupo de tratamiento respecto al control.

Sin embargo, la lubricación, orgasmo, satisfacción y dolor basal fue similar en ambos grupos pre-tratamiento, con mejoría estadísticamente significativa desde la semana 24 en el grupo tratamiento respecto de las pacientes controles y dicho efecto se mantiene a lo largo del estudio.



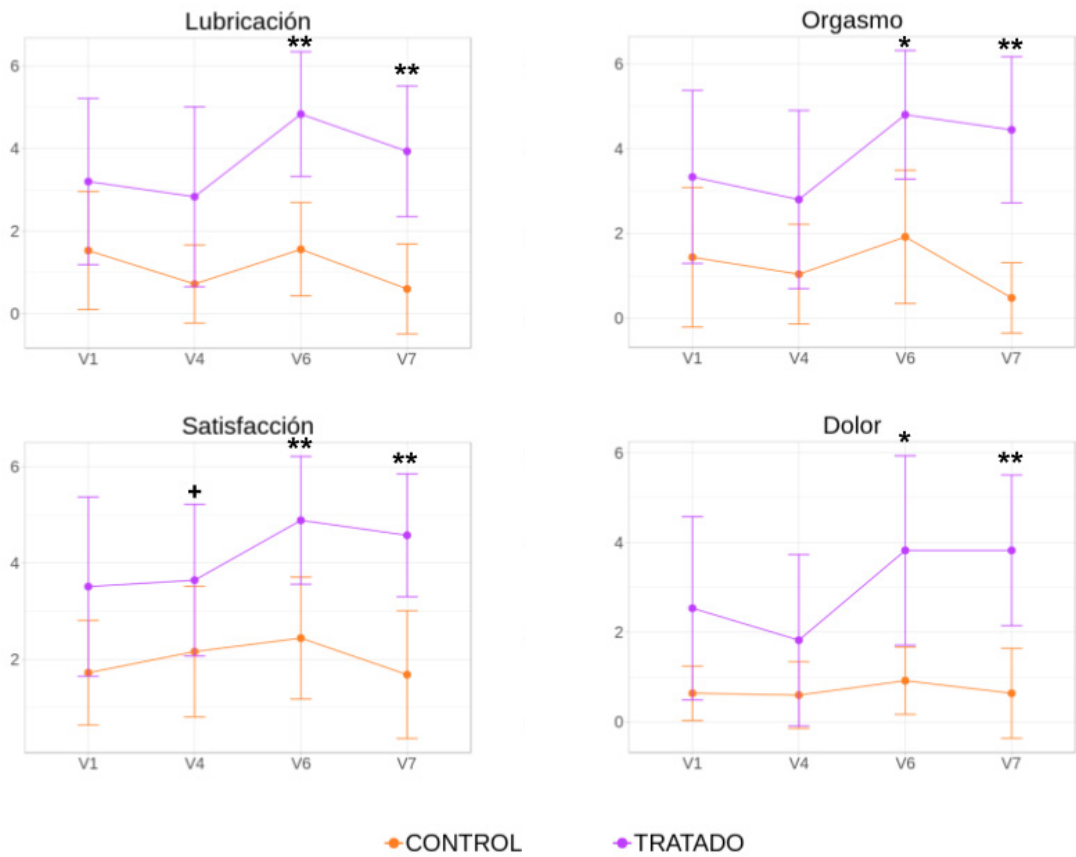


Fig. 34 IFS desglosado por dominios: Gráfico representando las medias e intervalos de confianza al 95% de los grupos definidos de ítems en la encuesta IFS. En estos gráficos el naranja representa las pacientes control y el morado las pacientes tratadas. La significatividad de las diferencias de medias en cada una de las visitas se representa con los siguientes símbolos: +: $p \leq 0.1$; *: $p \leq 0.05$; **: $p \leq 0.01$

4.8. EVENTOS ADVERSOS DERIVADOS DEL TRATAMIENTO.

En total hubo 40 eventos adversos, aunque ninguno se consideró directamente relacionado con el tratamiento (Tabla 9).

Hubo tres episodios de brote de LEV que ocurrieron solo en el grupo control.

En general, hubo mayor número de acontecimientos adversos en el grupo control que en el grupo tratamiento (Tabla 10).

Los eventos adversos más frecuentes fueron las cefaleas, infecciones de vías respiratoria altas, infecciones leves gastrointestinales e infecciones del tracto urinario.

Los acontecimientos adversos musculo-esqueléticos más frecuentes fueron las lumbalgias y artralgias. Dos pacientes tuvieron fracturas en tobillo y en peroné por accidentes casuales y fueron tratadas de manera conservadora.

Los 2 episodios de tromboflebitis que fueron clasificados como graves, requirieron tratamiento médico. Y una de las pacientes fue operada de forma programada y en régimen de media estancia para practicarle una safenectomía.

Durante la fase final del estudio, una paciente del grupo control informó sobre su reciente diagnóstico de Cirrosis Biliar Primaria, enfermedad autoinmune que puede relacionarse con el LE.

Tabla 9. Eventos adversos derivados del tratamiento.

Acontecimientos Adversos	Nº		Gravedad		Causalidad	Acción tomada
	40	Leve	Moderado	Grave		
Brote LEV	3	x			No relacionado	Medicación
Musculo - esquelético	8				No relacionado	
• Lumbalgia	3	x				Medicación
• Artralgia	3	x				Medicación
• Fractura	3		x			
Infecciones	16				No relacionado	
• Respiratoria	7	x				Medicación
• Tracto urinario	5	x				Medicación

Acontecimientos Adversos	Nº		Gravedad		Causalidad	Acción tomada
• Gastro - intestinales	4	x				Medicación
Vascular	2				No relacionado	
• Trombofle- bitis	2			x		Medicación
Neurológicos	9					
• Cefaleas	9	x				Medicación
Cirugías	1				No relacionado	
• Varices	1		x			Cirugía
Diagnóstico nuevo	1				No relacionado	
• Cirrosis Bi- liar	1	x				Medicación

Tabla 10. Eventos adversos en grupo control y en grupo Tratamiento.

Acontecimientos Adversos	Grupo Control N=28	Grupo Tratamiento N=12
Brote LEV	3 (100%)	0
Lumbalgia	2 (67%)	1 (33%)
Artralgia	2 (67%)	1 (33%)
Fractura	2 (100%)	0
Infección Respiratoria	5 (71%)	2 (29%)
Infección Gastrointestinal	3 (75%)	1 (25%)
Infección Urinaria	4 (80%)	1 (20%)
Tromboflebitis	1 (50%)	1 (50%)
Cefaleas	5 (56%)	4 (44%)
Cirugías	0	1 (33%)
Cirrosis Biliar primaria	1 (100%)	0

PARTE V

DISCUSIÓN

El LEV es una enfermedad crónica, inflamatoria mediada por linfocitos T, y de etiología desconocida, probablemente multifactorial, aunque cada vez más, se aboga por el mecanismo autoinmune. Hasta ahora no hay tratamientos estandarizados para esta enfermedad, salvo el uso de corticoides ultrapotentes que solo producen un 20% de remisiones. Por esta razón, cualquier opción terapéutica nueva debería ser evaluada como una oportunidad para tratar a este tipo de pacientes. En este estudio hemos pretendido investigar la posible capacidad antiinflamatoria, inmunomoduladora e inmunosupresora del tejido adiposo, descrita en estudios previos^{72,55,73} y del plasma rico en plaquetas (PRP) autólogos^{60,62,74} en las lesiones producidas por LEV.

Para ello, realizamos un estudio comparativo en pacientes con afectación moderada-severa de LEV donde hemos evaluado la eficacia del tratamiento con tejido adiposo y PRP autólogos mediante la cuantificación de la mejoría histológica, de los síntomas y signos de afectación macroscópica, así como de la calidad de vida y de la función sexual antes y después de la aplicación del tratamiento citado y compararlo con un grupo de pacientes control tratadas con los clásicos corticoides tópicos. En este sentido nuestro estudio es innovador porque hasta la fecha no se habían abordado de forma detallada los diversos aspectos de la enfermedad, ni se ha investigado a todos los niveles en una misma paciente la eficacia del tratamiento local con tejido graso autólogo y PRP.

Estudios previos han investigado acerca del papel del tejido adiposo y PRP autólogos en las pacientes con LEV. Así pues, Casabona et al.⁵⁴ relataron una mejoría sintomática del trofismo de la mucosa vulvar y de la función sexual de 15 pacientes con LEV tratadas con tejido adiposo y PRP autólogos. Sin embargo, no midieron dichos hallazgos con escalas validadas ni corroboraron con estudios histológicos de manera objetiva la mejoría clínica. Además, dicho estudio fue llevado a cabo en mujeres con LEV sin comparar con un grupo control ni plantearon el estudio como ensayo clínico aleatorizado.

Por otro lado, el trabajo de Boero et al. se desarrolló en 36 pacientes afectadas de LEV a las que se les infiltra 8-15 cc de tejido adiposo hasta en 3 ocasiones. Relata una mejoría de la calidad de vida y de la función sexual en estas pacientes tras el tratamiento junto con una mejora del trofismo de la mucosa vulvar, desaparición de las lesiones por rascado, aumento del volumen tanto de labios mayores y menores, así como una remisión de las placas blanquecinas, una mejoría de la

elasticidad del introito y una disminución del grado de fimosis clitoriana⁵⁵. Sin embargo, desconocemos si dichos cambios fueron en paralelo con mejoría en los cambios histológicos.

En la misma línea, el trabajo de Onesti versa sobre el tratamiento de células madre derivadas de adipocitos (10×10^5 /2ml de ácido hialurónico) en 5 pacientes afectadas de LEV. Les aplicaron 2 sesiones en 3 meses y constataron una mejoría del dolor, de la función sexual y del trofismo vulvar que se mantuvieron hasta los dos años que duró el estudio⁷³.

Estos trabajos describen una disminución del componente inflamatorio en general tras el tratamiento con dicho tejido^{55,73}. Sin embargo, no especifican cuáles son las células implicadas en este mecanismo antiinflamatorio y en qué medida el tratamiento es capaz de producir cambios. Tampoco son ensayos clínicos aleatorizados ni comparan el efecto con pacientes control.

En este trabajo hemos demostrado que el componente inflamatorio agudo (presente en las pacientes afectadas de LEV) presenta un descenso en el caso del grupo tratamiento y un aumento en el caso de las pacientes control, indicando un posible efecto del tratamiento. Esta disminución significativa de dicho componente inflamatorio agudo en las pacientes tratadas, se evidencia sobre todo a nivel de los linfocitos T y eosinófilos intradérmicos. El número de mastocitos y linfocitos perivasculares, también muestra un descenso respecto a las pacientes controles, aunque no tan marcado como los linfocitos T y los eosinófilos.

En cuanto a los marcadores de lesión crónicos, en los trabajos de Boero y de Onesti hablan de una disminución de la hiperqueratosis, acantosis, fibrosis de la dermis y de la dilatación de capilares en las pacientes tratadas sin cuantificar la disminución. Tampoco se habla de significación en la comparación de los valores pre y post tratamiento y no hay comparación con pacientes control. Además, así como en el trabajo de Boero la biopsia se toma a los 8 meses, en el trabajo de Onesti no se especifica, por lo que deducimos que tuvo lugar entre 1-2 años tras el tratamiento.^{55,73}

En nuestro trabajo ampliamos el estudio de dichos marcadores de lesión epidérmica crónicos y añadimos al análisis los cuerpos apoptóticos, la paraqueratosis, los melanófagos y la hipergranulosis. Al igual que en los trabajos comentados anteriormente vimos que todos los parámetros analizados disminuyeron en las pacientes tratadas, aunque no en el nivel de significación en que lo hicieron los marcadores agudos de lesión (salvo los cuerpos apoptóticos que disminuyen de forma muy significativa por disminución clara del daño epitelial). Este hallazgo de disminución mayor en los marcadores agudos de inflamación puede ser atribuido

a que por una parte nuestras pacientes partían de una afectación moderada-severa y, por tanto, una enfermedad muy evolucionada y, por otra parte, quizá a que tomamos la biopsia posterior al tratamiento de forma precoz (3 meses después de la segunda infiltración) y, por tanto, podía ser que no transcurrió el tiempo suficiente para que estos parámetros crónicos disminuyeran de forma más significativa. Quizá en futuros estudios, con el fin de poder observar cambios más relevantes en los marcadores de lesión crónicos, se deba tomar la biopsia más allá de los 8-12 meses posteriores al tratamiento igual que se hizo en los trabajos de Boero⁵⁵ y Onesti⁷³.

Este estudio constata un aumento de la atrofia epidérmica a lo largo del tiempo, tanto en el grupo control como en el grupo tratamiento, fenómeno no evaluado previamente en ningún otro estudio. Las pacientes incluidas presentaban afectación moderada-severa de la enfermedad, no eran respondedoras al tratamiento esteroideo y adicionalmente se permitía la continuación de la terapia tópica con corticoides, en pauta de mantenimiento, en todas ellas para evitar la aparición de brotes de la enfermedad. Todo ello está asociado íntimamente a una atrofia epidérmica, como se ha postulado en otros trabajos.^{55,75,76}

Por otro lado, los estudios de Boero y Onesti observaron una disminución de la fibrosis dérmica tras el tratamiento^{55,73}. Sin embargo, en el presente trabajo al analizar la fibrosis subepitelial, se observó un aumento paradójico en las pacientes tratadas. Este fenómeno inesperado, podría explicarse porque se ha observado que los injertos grasos pueden reabsorberse a lo largo del tiempo y ser reemplazados por tejido fibroso.⁷⁷ También podría ser debido a que el PRP mezclado con el injerto de tejido adiposo produce un mayor mantenimiento del volumen cuando se aplica esta técnica conjunta en reconstrucción mamaria probablemente debido a un prendimiento mayor del injerto de tejido graso⁷⁰. Por otro lado, este aumento de la fibrosis subepitelial podría ser secundario al daño inherente a la propia cirugía de la infiltración, ya que puede generar cierta presencia de tejido cicatricial con depósito de fibras de colágeno durante el proceso de cicatrización, puesto que la segunda biopsia se tomó 3 meses después de la segunda infiltración, en plena fase de maduración del tejido cicatricial, la cual puede durar hasta 1-2 años. Probablemente y como ya se ha reseñado con anterioridad, si hubiéramos realizado un seguimiento más amplio en el tiempo, como proponen en estudios previos, que esperan hasta 24 meses, tal vez se podría haber evidenciado una mejoría en la fibrosis dérmica.^{54,55,73}

Estudios previos han visto que el PRP inyectado de manera aislada produce un aumento de la proliferación de fibroblastos y una aceleración de la producción de colágeno tipo I y III que podría explicar el aumento de la fibrosis dérmica⁷⁴. En este sentido, recientemente, se ha publicado un ensayo clínico, donde solo se inyectó

PRP aislado (sin tejido adiposo autólogo asociado) como tratamiento del LEV a 19 pacientes⁷⁸. Los autores concluyen que el PRP no es beneficioso para el LEV puesto que el 52,6% no presentó ningún cambio y el 21% de las pacientes presentó empeoramiento en la biopsia cuando analizaron el componente inflamatorio en estas pacientes., Sin embargo, el mismo grupo publicó dos años antes un estudio piloto donde se evidenció que el PRP reducía el componente inflamatorio en la histología en 58,3% de los pacientes⁷⁹. Por el contrario, otro estudio similar y más reciente reporta una mejoría sintomática en el 62% de los pacientes de LEV tratados solo con PRP⁷⁶, aunque con la limitación de que no fue un ensayo clínico controlado ni se usó evaluación histológica ni escalas validadas que midieran la mejoría sintomática a diferencia del ensayo clínico de Goldstein⁷⁸.

En resumen, hasta la fecha toda la literatura parece indicar que, tras los hallazgos del aumento de la fibrosis dérmica en las pacientes del grupo tratamiento, puedan estar implicados en diferente medida el PRP y su estímulo de la producción de colágeno I y III, el daño cicatricial dérmico inherente a cualquier infiltración y la toma precoz de la biopsia, antes de la finalización de la fase fisiológica de remodelación cicatricial. Estos resultados en los parámetros de atrofia epidérmica y fibrosis subepitelial parecen relacionarse, como se explicará más adelante, con los datos de no mejoría de la elasticidad neta y de empeoramiento en la elasticidad bruta debido a que las biopsias post-tratamiento se tomaron precozmente, durante la fase de remodelación o maduración del tejido cicatricial que suele extenderse hasta los 2 años.⁸⁰

Respecto a la mejoría de los síntomas, se ha observado que todas las pacientes con LEV tratadas con infiltraciones de tejido graso y PRP autólogos, presentaron una mejoría sintomática y además ninguna de las pacientes tratadas sufrió un brote de la enfermedad durante el año de seguimiento. En este grupo de pacientes, la mejoría de afectación estructural o macroscópica también ha sido significativa al igual que la calidad de vida y la función sexual, esta última hasta puntuaciones de no disfunción sexual.

Los síntomas principales del LEV son el dolor, prurito, dispareunia y quemazón. En los estudios publicados previamente se ha constatado una mejoría del dolor, aunque en ninguno de dichos estudios se aclara el método de medición.^{73,55,54} Sin embargo, en este estudio se ha podido confirmar esta mejoría mediante la escala de puntuación clínica del LEV y se ha comparado en los mismos términos con las pacientes control, encontrando diferencias significativas con estas pacientes, no solo en el dolor, sino también en el prurito, quemazón y dispareunia. Sólo hay un estudio previo que ha aplicado esta escala de evaluación de los principales síntomas a las pacientes con LEV⁷⁸. Sin embargo, en las conclusiones solo se describen los cambios de la inflamación, quizá porque el objetivo principal fue la medición

de la eficacia del tratamiento en términos de disminución de la inflamación.

El prurito junto con el dolor es uno de los síntomas principales del LEV. Este síntoma es tan incapacitante que se ha llegado a concluir que el prurito crónico condiciona que los pacientes decidan acortar su esperanza de vida un 13% con tal de suprimir este síntoma⁴². No existen estudios previos que hayan ahondado en la mejoría cuantitativa del prurito. Al analizar este síntoma en sus 5 dimensiones (duración, grado, dirección, incapacidad y localización), los resultados arrojaron una mejoría significativa del prurito en las pacientes tratadas, respecto a las pacientes del grupo control, desde el primer mes tras la primera infiltración. Es importante señalar la relevancia en la gran mejoría en la calidad de vida que puede suponer la abolición o la mejoría del prurito en los pacientes con LEV tratados con tejido adiposo y PRP autólogos. Adicionalmente, se asoció a una mejoría significativa de la quemazón y la dispareunia en las pacientes tratadas con respecto al grupo control, datos que no habían sido descritos en la literatura previamente publicada.

Un hallazgo sorprendente fue que tras un año, se observó un leve empeoramiento de los síntomas en ambos grupos de pacientes. Esto podría deberse quizá a un efecto pasajero del tratamiento en las pacientes tratadas y a una posible necesidad de otra dosis para mantener los efectos, como se ha hecho en otros estudios para los casos rebeldes o con fibrosis severa y dependiendo de la respuesta, que han llegado a realizar 3 aplicaciones^{54,55,73}. Por otro lado, podría haber ocurrido que las pacientes que participan en un ensayo clínico consideran que su participación es ventajosa ya que les garantiza un control más estrecho de su enfermedad y tienen prioridad para realizarse pruebas diagnósticas.⁸² El hecho de saber que el estudio finalizaba podría haberles ocasionado cierta intranquilidad y temor que pudo traducirse en un empeoramiento de la respuesta.

Si analizamos la afectación macroscópica, se demostró una mejora en el grupo de las pacientes tratadas con respecto al grupo control desde el primer mes posterior a la primera infiltración de tejido adiposo autólogo y PRP, que fue muy significativa en el caso de las erosiones y las fisuras. Es el primer ensayo clínico que expone los resultados de mejoría de la afectación macroscópica de las pacientes con LEV tratadas en relación con las pacientes del grupo control. Casabona et al. sostienen que 4 meses tras el tratamiento con tejido adiposo y PRP autólogos el "aspecto de la vulva era bastante normal", Onesti et al. observaron una desaparición del eritema a nivel del surco interlabial y del introito y Boero et al. hicieron una descripción más exhaustiva de los hallazgos macroscópicos encontrados tras el tratamiento con tejido adiposo autólogo, como fue una mejora del trofismo vulvar y desaparición de las lesiones de rascado en el 94% de las pacientes, un aumento del volumen de labios mayores y menores en el 83%, una remisión de las lesiones blanquecinas en el 78%, una mejora de la elasticidad del introito en el

75% y una disminución del grado de fimosis del clítoris en el 50% de las pacientes. Sin embargo, este último estudio no tiene pacientes control con quien comparar e incluye pacientes con afectación leve (no detalla el porcentaje de éstas en la muestra de 36 pacientes) que son más susceptibles de obtener mejores resultados con el tratamiento por no estar la enfermedad tan evolucionada, tampoco se especifica cómo y en qué momento se han medido dichos hallazgos ni si se ha aplicado ninguna escala objetiva de valoración macroscópica.

A diferencia de las pacientes tratadas, la afectación macroscópica no se modificó en las pacientes control quienes incluso presentaron un aumento en las erosiones a lo largo del estudio debido a que fue este grupo en exclusiva el que sufrió brotes de la enfermedad. Estas pacientes presentaron un mayor número de flictenas hemorrágicas y mayor extensión de las placas blanquecinas, hallazgo posiblemente relacionado con la continuación de la administración de tratamiento tópico con corticoides ultrapotentes.⁸³

No existen estudios hasta la fecha que hayan medido de forma objetiva la elasticidad en el LEV. En este estudio se usó el Cutometer-dual-mpa® con sonda de 2 mm. En otros estudios (no relacionados con el LEV) aconsejan el uso de la sonda de apertura de 8 mm para determinar las propiedades mecánicas de dermis e hipodermis en enfermedades que producen cambios en la dermis (esclerosis sistémica, escleredema de Buschke, psoriasis, queloides y erisipelas)^{84,85}. El uso de la sonda de 2mm facilita el manejo en regiones de piel fina y flácida como es el capuchón del clítoris, aunque es más selectiva para las propiedades mecánicas de epidermis. A posteriori y a tenor de los resultados obtenidos en los parámetros de elasticidad, el uso de la sonda de 8mm (más apropiada para medir los cambios en la dermis), podría haber sido preferible para detectar un aumento de la elasticidad en las pacientes tratadas, correlacionado con la mejoría observada en el patrón inflamatorio.

Parece lógico pensar en una ganancia en la elasticidad tras el tratamiento con tejido graso autólogo como se postula en el estudio de Pallua et al que utiliza la escala POSAS (Escala de Evaluación Objetiva de Paciente y Observador) para evaluar la elasticidad de la cicatriz⁸⁶. Este sistema de medición evalúa dicha flexibilidad de una forma más grosera (en una escala del 1 al 10 al arrugar la cicatriz entre los dedos pulgar e índice), mientras que nosotros utilizamos un sistema de medición óptica (Cutometer-dual-mpa®) cuyos valores oscilan entre 0 y 1. Contrariamente a lo publicado, en este estudio se ha observado que la mayoría de las variables de elasticidad medidas no presentan diferencias significativas entre controles y pacientes tratados y que las variaciones leves que existen, pueden deberse a factores extrínsecos como una diferente presión al aplicar la sonda por parte de la investigadora, un movimiento leve de la paciente durante la medición,

una dificultad de acceso a la zona, etc.

El hecho de no encontrar diferencias significativas entre los grupos de pacientes e incluso ver un empeoramiento de la elasticidad, puede deberse a que el daño inherente a la propia cirugía de la infiltración de tejido graso y PRP autólogos puede generar cierta presencia de tejido cicatricial con depósito de fibras de colágeno durante el proceso de cicatrización que puede llegar a durar 1-2 años como ya se ha explicado anteriormente y, por tanto, puede afectar a la elasticidad y a las mediciones que hemos hecho durante el primer año. Draaijers et al. en su estudio apuntan que el uso del PRP disminuye la elasticidad bruta.⁸⁷ Este aumento de la dureza de la piel en las pacientes tratadas, podría deberse a la acumulación de colágeno tipo I y III por el efecto del PRP⁵⁹. Este aumento de firmeza también se ha descrito en el caso del escleredema de Buschke, en la esclerodermia generalizada y en las lesiones progresivas de morfea, debido al engrosamiento de los haces de colágeno y al edema en el tejido subcutáneo^{35,36,41,85}.

Por otro lado, hay estudios que señalan el Cutometer-dual-mpa® como fiable en la medición de elasticidad en piel normal y lesiones de esclerodermia, pero no se ha evaluado suficientemente en cicatrices, donde además de haber una abundante estructura de colágeno, la superficie irregular (capuchón del clítoris) puede influenciar la fiabilidad de los resultados, concluyendo que, para aumentar la certeza de dichos valores, la medición debe ser llevada a cabo por 2 o más personas⁸⁷.

En resumen, quizá el Cutometer-dual-mpa® no sea el instrumento más adecuado para la medición de la elasticidad en la piel cicatricial del liquen escleroso, o quizá sea preferible usar la sonda de 8mm (más apropiada para medir los cambios en la dermis), o realizar las mediciones por dos o más personas entrenadas y a partir del año de tratamiento para evitar la fase de maduración cicatricial. Por último, quizá el empeoramiento no esperado de la elasticidad se produzca por un exceso de formación de colágeno tipo I y III por el PRP.

La calidad de vida consiste en la sensación de bienestar que puede ser experimentada por los individuos y representa la suma de sensaciones subjetivas y personales del “sentirse bien”, por ello es importante evaluar el impacto que tiene el LEV en la calidad de vida de aquellas pacientes que lo padecen. En este estudio hemos observado una mejoría muy significativa de la calidad de vida en las pacientes tratadas. Estos datos son refrendados por los estudios previos que ya describen una mejoría estadísticamente significativa en la calidad de vida en las pacientes de LEV tratadas con tejido adiposo autólogo⁵⁵. A diferencia de estos autores, que utilizaron la escala índice de calidad de vida dermatológico (DLQI), en este estudio se decidió usar la versión española de Skindex-29 ya que ésta no tiene un efecto suelo y tiene sensibilidad al cambio. Además, debido a la impor-

tancia que tiene la calidad de vida en las personas, se analizó en profundidad los diferentes dominios de la calidad de vida, los cuales mejoraron significativamente en las pacientes tratadas (sintomático, emocional y funcional) con respecto a las pacientes del grupo control. De nuevo, hubo al final del estudio un empeoramiento de la calidad de vida en ambos grupos, mayor en el grupo control. Quizá debido, como ya se ha apuntado anteriormente con los síntomas, a la necesidad de una nueva dosis de recuerdo en las pacientes tratadas o a un empeoramiento por el curso inexorable de la enfermedad que tiende a la cronicidad con fases de exacerbación y remisión en las pacientes control³⁰. Adicionalmente, y al hilo de este hallazgo, el tratamiento prolongado con corticoides ultrapotentes puede contribuir aún más a la atrofia epidérmica propia de la enfermedad, así como al desarrollo de hematomas por fragilidad de la piel y a una mayor tendencia a las infecciones locales⁸⁸, fenómenos que pueden contribuir al empeoramiento de la calidad de vida. Por último, de nuevo enfatizar en el efecto de “preocupación” por finalizar un ensayo clínico en el cual la participación es considerada por las pacientes como ventajosa, ya que les garantiza un control más estrecho de su enfermedad y tienen prioridad para realizarse pruebas diagnósticas⁸².

La calidad de vida y la salud sexual están íntimamente relacionadas y de forma más estrecha en las pacientes afectadas de LEV. De igual forma hubo una mejoría significativa en las pacientes tratadas con respecto al grupo control. La salud sexual viene definida como un estado físico, emocional, mental y social de bienestar en relación con la sexualidad. No es tan solo la ausencia de enfermedad o disfunción⁸⁹. La sexualidad es un componente importante en la vida de las mujeres menopáusicas y a pesar de la importancia de la función sexual en este grupo de población, se ha visto que la disfunción sexual aumenta con la edad y el climaterio^{90,91}.

Existe consenso en la utilización de la escala del índice de función sexual de Rosen para evaluar la función sexual en estas pacientes^{47,48}. A mayor puntuación, mejor función sexual, aunque hay autores que mantienen el punto de corte original para riesgo de disfunción sexual en la puntuación de 26 sobre la calificación global de 36⁸⁶. Por regla general, las pacientes con LEV obtienen puntuaciones bajas en el test de función sexual de Rosen indicando que hay una disfunción sexual clara en las pacientes afectadas en estadios moderados y severos. Estudios similares que han analizado el bienestar sexual de pacientes con LE, vieron que obtenían una puntuación final de 18,8⁹². En dicho estudio analizaron, aparte de la calidad de vida, los diferentes dominios de la escala de función sexual en 215 mujeres que padecían LEV y se compararon los resultados con un grupo control de 61 mujeres de edad similar sin afectación dérmica y las pacientes afectadas de LEV tenían afectada la calidad de vida y se concluyó que en el LE la función sexual era la más

afectada y en todos los dominios⁹².

En este estudio, la puntuación media de todas las pacientes al inicio del estudio fue de 14,33 lo cual reafirma la influencia tan significativa del LEV en la función sexual⁹³. Sin embargo, se ha visto una mejoría muy significativa de dicha función en las pacientes tratadas respecto al grupo control. Esta mejoría sexual ha sido apuntada en estudios previos confirmando la mejoría de la función sexual en las pacientes con LE que fueron tratadas con inyección de células madre derivadas de adipocitos^{55,73}. En este estudio se amplió el análisis a todos los dominios que componen la función sexual habiendo encontrado diferencias significativas en todos ellos que se mantienen a lo largo del estudio en las pacientes tratadas. Si analizamos lo que ocurre en la última visita, vemos que apenas se deteriora la función sexual en el grupo de las pacientes tratadas y de forma más acusada en las pacientes control, lo que hace que las diferencias entre ambos grupos sean aún más significativas, por el efecto del tratamiento. Es conocido un empeoramiento por el curso inexorable de la enfermedad que tiende a la cronicidad con fases de exacerbación y remisión en las pacientes control³⁰.

Las pacientes tratadas relataron haber notado una mejoría significativa en la lubricación tras los 2 tratamientos. Aunque no existen en la literatura trabajos que describan este hallazgo, parece que esto pudiera deberse a que al inyectar en el introito tejido graso autólogo con sus células madre mesenquimales y PRP con sus factores de crecimiento, se activaría la producción de lubricante por las glándulas de Bartholin en el introito vaginal, que son las encargadas de producir la lubricación de la vulva y la parte exterior de la vagina durante las relaciones sexuales. Serían necesarios más estudios prospectivos para determinar el efecto regenerativo tanto de las células madre derivadas del tejido adiposo como del PRP sobre la lubricación a fin de poder ofrecer esta terapia en los casos de sequedad vaginal de diversa índole, y sobre todo en aquellos casos donde la terapia hormonal no sea posible debido a los antecedentes de cánceres estrógeno-dependientes. Hasta la fecha, los estudios clínicos sugieren que las células madre derivadas de adipocitos son seguras y capaces de producir tanto una reparación tisular como una regeneración en múltiples aplicaciones⁹⁴.

En cuanto a los eventos adversos relacionados con el tratamiento fueron poco frecuentes y no condicionaron hospitalizaciones. Cabe destacar que durante el estudio todos los brotes de LEV ocurrieron en el grupo de las pacientes control y ninguno en las pacientes tratadas. Las infecciones de orina son complicaciones que aparecen secundariamente en las mujeres con LEV que sufren disfunción vesical secundaria a las alteraciones anatómicas. Por ello, las infecciones urinarias que se presentaron no fueron confirmadas objetivamente mediante análisis microbiológicos urinarios. De hecho, el 80% de las infecciones urinarias se dio en el

grupo de las pacientes que no recibió el tratamiento experimental. Es posible que las mujeres, tanto en estadíos iniciales de LEV como en estadíos más avanzados, sufran infecciones vesicales sintomáticas abacterianas, pudiendo ser este hecho uno de los síntomas más precoces del LEV. Es conocido que la probabilidad de desarrollar síntomas correspondientes al tracto urinario en su tramo inferior es cuatro veces mayor en mujeres con LEV que en mujeres sin esta enfermedad. El síntoma predominante, tanto en mujeres con LEV como en pacientes sin LEV, es una hiperactividad vesical y no queda claro si el tratamiento tópico adecuado en el LEV tiene algún impacto en los síntomas de hiperactividad vesical asociados al LEV⁹⁵.

En conclusión, este ensayo clínico consigue demostrar que la inyección de tejido adiposo autólogo y PRP como tratamiento de las pacientes con LEV produce una mejoría tanto de los marcadores agudos como los crónicos de lesión. La mejoría de los síntomas a corto-medio plazo y la mejoría que consigue dicho tratamiento de las erosiones y fisuras es significativa, lo cual se traduce en una mejora de la calidad de vida y la función sexual con restablecimiento de dicha función y con pocos eventos adversos asociados. Por tanto, puede ser una buena opción terapéutica para estas pacientes que, hasta la fecha, no disponen de tratamientos alternativos a los corticoides y cuya calidad de vida en todos los ámbitos se ve afectada de manera importante.

Son necesarios más estudios para confirmar estos hallazgos y para investigar de forma más exhaustiva el rol de la vía regenerativa de las células madres derivadas de tejido adiposo y los factores de crecimiento del PRP en el LEV. Es esencial establecer, mediante una cohorte prospectiva amplia, un esquema terapéutico que sirva para optimizar las dosis y el número de administraciones. Este estudio abre la posibilidad de nuevas líneas de tratamiento en este tipo de enfermedades donde el efecto antiinflamatorio e inmunosupresor local puede ser útil en la mejoría de las lesiones, e incluso puede cambiar la evolución del curso de esta enfermedad.

PARTE VI

CONCLUSIONES

1. El tratamiento mediante la infiltración vulvar de tejido adiposo y PRP autólogos en pacientes con LEV, mejora de forma objetiva los marcadores histológicos de lesión epidérmicos agudos y crónicos así como los signos de afectación macroscópica, el trofismo de la mucosa vulvar, la elasticidad del introito, las erosiones y fisuras.
2. Este efecto se correlaciona con una mejora subjetiva de los síntomas, que se traduce en una mejoría en la calidad de vida y en la función sexual llegando a alcanzar puntuaciones de no disfunción sexual.
3. El efecto de la inyección de tejido adiposo y PRP autólogos en pacientes con LEV parece debido a las propiedades inmunosupresoras, inmunomoduladoras, antiinflamatorias y regenerativas de dichas células sobre el tejido afecto.
4. El tratamiento mediante la infiltración vulvar de tejido adiposo y PRP autólogos, además de efectivo, es seguro y no produce eventos adversos graves.

Me gustaría acabar esta tesis doctoral con una de mis frases favoritas, pertenece a Jaques Derrida:

“Si las cosas fueran simples, se hubiera corrido la voz”

“If things were simple, word would have gotten around”

Gracias.

PARTE VII

BIBLIOGRAFÍA

1. A.T. Goldstein, S.C. Marinoff, K. Christopher, et al. Prevalence of vulvar lichen sclerosus in a general gynecology practice, *J. Reprod. Med.* 50 (7) (2005) 477-480.
2. Hallopeau H Leçons cliniques sur les maladies cutanées et syphilitiques. Première leçon, suite et fin. Le lichen plan atrophique. *Union Médicale*, 43 (1887): 742-747.
3. Powell, J., & Wojnarowska, F. Lichen sclerosus. *The Lancet*, (1999) 353(9166), 1777-1783.doi:10.1016/s0140-6736(98)08228-2
4. Meyrick T, Ridley CM, McGibbon DK, et al. Lichen sclerosus et atrophicus and autoimmunity: A study of 350 women. *Br J Dermatol* (1988); 118:41-6.
5. Meffert JJ, David BM, Grinwood RE. Lichen sclerosus. *J Am Acad Dermatol* (1995); 32:393-416
6. Dickie RJ, Horne CH, Sutherland HW et al. Direct evidence of localised immunological damage in vulvar lichen sclerosus et atrophicus. *J Clin Pathol* (1982); 35:1395-7.
7. Carli P, Cattaneo A, Pimpinelli N et al. Immunohistochemical evidence of skin immune system involvement in vulvar lichen sclerosus et atrophicus. *Dermatologica* (1991); 182:18-22.
8. Farrell AM, Marren P, Dean D et al. Lichen sclerosus: evidence that immunological changes occur at all levels of the skin. *Br J Dermatol* (1999); 140:1087-92.
9. Aguilar A, Vázquez F, Guerra A, et al. Liquen escleroso y atrófico asociado a enfermedad de Hashimoto. *Actas Dermosifiliogr* (1987); 78:333-5.
10. Oyama N, Chan I, Neill SM, et al: Autoantibodies to extracellular matrix protein 1 in lichen sclerosus. *Lancet* (2003); 362: pp. 118-123
11. Doulaveri G, Armira K, Kouris A, et al. Genital vulvar lichen sclerosus in monozygotic twin women: a case report and review of the literature. *Case Rep Dermatol.* (2013); 5(3):321-325.
12. Jordá E, Quiles D, Galan A, et al. Liquen escleroatrófico cutáneo familiar: Presentación a lo largo de tres generaciones. *Actas Dermosifiliogr* (1991); 82:470-2.

13. Marren P, Yell J, Charnock FM, et al. The association between lichen sclerosis and antigens of the HLA system. *Br J Dermatol* (1995); 132: pp. 197-203
14. Paulis G, Berardesca E. Lichen sclerosis: the role of oxidative stress in the pathogenesis of the disease and its possible transformation into carcinoma. *Res Rep Urol.* (2019); 11:223-232.
15. C.S. Sander, J. Ali, D. Dean, et al. Oxidative stress is implicated in the pathogenesis of lichen sclerosis. *Br J Dermatol*, 151 (2004), pp. 627-635
16. S.H. Tan, E. Derrick, P.H. McKee, et al. Altered p53 expression and epidermal cell proliferation is seen in vulvar lichen sclerosis. *J Cutan Pathol*, 21 (1994), pp. 316-323
17. Powell J, and Wojnarowska F. Childhood vulvar lichen sclerosis and sexual abuse are not mutually exclusive diagnoses. *BMJ* (2000); 320: pp. 311
18. S Labandeira J, Pereiro M Jr, Roson E, et al. Rectorrhagia and lichen sclerosis in childhood. *Pediatr Dermatol*, 18 (2001), pp. 543-5
19. Goldstein AT, Marinoff SC, Christopher K et al. Prevalence of vulvar lichen sclerosis in a general gynecology practice. *J Reprod Med* (2005); 50:477-80.
20. Wallace HJ. Lichen sclerosis et atrophicus. *Trans St John's Dermatol Soc* (1971); 57:9-30.
21. H. Wang, C.C. Chi, Y.W. Wong, et al. Genital verrucous carcinoma is associated with lichen sclerosis: a retrospective study and review of the literature. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 24 (2010), pp. 815-819
22. Powell J, Robson A, Cranston D, et al. High incidence of lichen sclerosis in patients with squamous cell carcinoma of the penis. *Br J Dermatol* (2001); 145:85-9.
23. Micheletti L, Preti M, Radici G et al. Vulvar Lichen Sclerosis and Neoplastic Transformation: A Retrospective Study of 976 Cases. *J Low Genit Tract Dis* (2016); 20:180-3.
24. Leibowitch M, Neill S, Pelisse M et al. The epithelial changes associated with squamous cell carcinoma of the vulva: a review of the clinical, histological and viral findings in 78 women. *Br J Obstet Gynaecol* (1990); 97:1135-9.
25. Walkden V, Chia Y, Wojnarowska F. et al. The association of squamous cell carcinoma of the vulva and lichen sclerosis: implications for management and follow up. *J Obstet Gynaecol* (1997); 17:551-3.
26. Vilmer C, Cavalier-Balloy B, Nogues C et al. Analysis of alterations adjacent to

invasive vulvar carcinoma and their relationship with the associated carcinoma: a study of 67 cases. *Eur J Gynaecol Oncol* (1998); 19:25-31.

27. Van Seters M, ten Kate FJ, van Beurden M et al. In the absence of (early) invasive carcinoma, vulvar intraepithelial neoplasia associated with lichen sclerosus is mainly of undifferentiated type: new insights in histology and aetiology. *J Clin Pathol* (2007); 60:504-9.

28. Libow LF, Koots NV. et al. Lichen sclerosus following the lines of Blaschko. *J Am Acad Dermatol* (1998); 38:831-3.

29. Iglesias M, Vázquez FJ, Panizo A, et al. Liquen escleroso y atrófico ampolloso hemorrágico. *Actas Dermosifiliogr* (1996); 87:415-7.

30. Guerra A. *Actas Dermo-Sifiliográficas*. Volume 94, Issue 10, (2003), Pages 633-641.

31. Bhargava K, Lewis FM. Lichen sclerosus occurring on vaginal mucosa secondary to uterine prolapse. *J Obstet Gynaecol* (2013); 33:319-20.

32. Zendell K, Edwards L. et al. Lichen sclerosus with vaginal involvement: report of 2 cases and review of the literature. *JAMA Dermatol* (2013); 149:1199-202.

33. Hald AK, Blaakaer J. et al. The possible role of human papillomavirus infection in the development of lichen sclerosus. *Int J Dermatol*. (2018) feb;57(2):139-146. doi: 10.1111/ijd.13697.

34. Fernández Figueras MT. et al. Histopatología dermatológica: liquen escleroso y atrófico. *Act Dermatolog* 2002;8/ 9:654.

35. Farrell AM, Marren PM, Wojnarowka F. et al. Genital lichen sclerosus associated with morphea or systemic sclerosis: Clinical and HLA characteristics. *Br J Dermatol* (2000);143: 598-603.

36. Farrell AM, Dean D, Millard PR, et al. Alterations in fibrillin as well collagens I and III and elastin occur in vulval lichen sclerosus. *J Eur Acad Dermatol Venereol* (2001); 15:212-7.

37. Carrière ME, Kwa KAA, de Haas LEM, et al. Systematic Review on the Content of Outcome Measurement Instruments on Scar Quality. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. (2019);7(9): e2424. doi:10.1097/GOX.0000000000002424

38. Günthert AR, Duklos K. Clinical scoring system for vulvar lichen sclerosus. *J Sex Med*. (2012) Sep;9(9):2342-50. doi: 10.1111/j.1743-6109.2012.02814.

39. Lieneke J, Draaijersae A, BotmanbFenike R, et al. Skin elasticity meter or subjective evaluation in scars: a reliability assessment. *Burns* Volume 30, Issue 2, March (2004), P. 109-114.
40. Klosová H, St tinský J, Bryjová I, et al. Objective evaluation of the effect of autologous platelet concentrate on post-operative scarring in deep burns. *Burns*. (2013) Sep;39(6):1263-76. doi: 10.1016/j.burns.2013.01.020.
41. Enomoto DN1, Mekkes JR, Bossuyt PM, et al. Quantification of cutaneous sclerosis with a skin elasticity meter in patients with generalized scleroderma. *J Am Acad Dermatol*. (1996) Sep;35(3 Pt 1):381-7.
42. Suephy C. Chen, MD, Pruritus. *Dermatologic clinics*. April (2012) Volume 30, Issue 2, P. 309-321.
43. Elman S, Hynan LS, Gabriel V, et al. The 5-D itch scale: A new measure of pruritus. *Br J Dermatol*. (2010);162(3):587-93.
44. Chren MM. The Skindex Instruments to Measure the Effects of Skin Disease on Quality of Life. *Dermatol Clin*. (2012) Apr; 30(2): 231-236.
45. Jones-Caballero M, Peñas PF. Calidad de Vida (I). Generalidades. *Actas Dermosifiliogr* 2002; 93 (7); 421-31.
46. Jones-Caballero M, Peñas PF. Calidad de vida (II). Calidad de vida en Dermatología. *Actas Dermosifiliogr* (2002); 93 (8): 481-9.
47. Rosen R., Brow C., Heiman J., et al. The Female Sexual Function Index (FSFI): a multidimensional self-report instrument for the assessment of female sexual function. *J Sex Marital Ther*. (2000) Apr-Jun;26(2):191-208.
48. Blümel M., Bimfa L., Cataldo P., et al. índice de función sexual femenina: un test para evaluar la sexualidad de la mujer *rev chil obstet ginecol* (2004); 69(2): 118-125
49. Chi C-C, Kirtschig G, Baldo M, et al. Topical interventions for genital lichen sclerosis. *Cochrane Database of Systematic Reviews* (2011), Issue 12. Art. No.: CD008240. DOI: 10.1002/14651858.CD008240.pub2
50. Bousema MT, Romppanen U, Geiger, et al. Acitretin in the treatment of severe lichen sclerosis et atrophicus of the vulva: a double-blind, placebo-controlled study. *J Am Acad Dermatol*. (1994) Feb. 30 (2 Pt 1):225-31.
51. Etanercept as treatment for diffuse scleroderma: a pilot study. ACR 64th Annual Scientific Meeting and ARHP 35th Annual Scientific Meeting, October 28-November 2, (2000), Philadelphia, PA.

52. G.K. Lam, L.K. Hummers, A. Woods, et al. Efficacy and safety of etanercept in the treatment of scleroderma-associated joint disease. *J Rheumatol*, 34 (2007), pp. 636-637
53. L. Chung, D.F. Fiorentino, M.J. Benbarak, et al. Molecular framework for response to imatinib mesylate in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*, 60 (2009), pp. 584-591
54. Casabona F., Priano V., Vallerino V. et al. New Surgical Approach to Lichen Sclerosus of the Vulva: The Role of Adipose-Derived Mesenchymal Cells and Platelet-Rich Plasma in Tissue Regeneration. *Plastic and Reconstructive Surgery: October (2010) Volume 126 - Issue 4 - p 210e-211e*.doi: 10.1097/PRS.0b013e3181ea9386
55. Boero V. Brambilla M., Sipio E. et al. Vulvar lichen sclerosus: A new regenerative approach through fat grafting. *Gynecologic Oncology*, Volume 139, (2015) Issue 3, 471 - 475
56. Rigotti, G. Marchi,A, Galiè,M, et al. Clinical Treatment of Radiotherapy Tissue Damage by Lipoaspirate Transplant: A Healing Process Mediated by Adipose-Derived Adult Stem Cells, *Plast. Reconstr. Surg.* (2007), 119(5):1409-1422.
57. J.M. Dayer, R. Chicheportiche, C. Juge-Aubry, et al. Adipose tissue has anti-inflammatory properties: focus on IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra), *Ann. N. Y.Acad. Sci.* 1069 (2006) 444-453.
58. Katz A, Mericli A. Stem cells derived from fat. In: *Principles of regenerative medicine*; (2011). p. 365-81.
59. Gnecci M, Danieli P, Malpasso G, et al. Paracrine Mechanisms of Mesenchymal Stem Cells in Tissue Repair. *Methods Mol Biol* (2016); 1416:123-46
60. Eppley BL, Pietrzak WS, Blanton M. Platelet-rich plasma: A review of biology and applications in plastic surgery. *PlastReconstr Surg.* (2006); 118:147e-159e
61. Weibrich G, Kleis WK, Hafner G. et al. Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex, and platelet count. *J Craniomaxillofac Surg.* (2002); 30:97-102.
62. Whitman DH, Berry RL. Green DM. Platelet gel:an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg* (1997); 55:1294-8.
63. García-Arranz M, Herreros MD, González-Gómez C, et al. Treatment of Crohn's-Related Rectovaginal Fistula With Allogeneic Expanded-Adipose Derived Stem Cells: A Phase I-IIa Clinical Trial *Stem Cells Transl Med.* (2016) Nov;5(11):1441-

1446. doi: 10.5966/sctm.2015-0356.

64. Panés, J., García-Olmo, D., Van Assche, G., et al. Expanded allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells (Cx601) for complex perianal fistulas in Crohn's disease: a phase 3 randomised, double-blind controlled trial. *The Lancet*, (2016) 388(10051), 1281-1290. doi:10.1016/s0140-6736(16)31203-x.

65. Yong Beom Cho, Kyu Joo Park, Sang Nam Yoon, et al. Long-Term Results of Adipose-Derived Stem Cell Therapy for the Treatment of Crohn's Fistula. *Cells Transl Med*. (2015) May; 4(5): 532-537. doi: 10.5966/sctm.2014-0199 PMID: PMC4414218 PMID: 25829404.

66. Nakagami H, Maeda K, Morishita R, et al. Novel autologous cell therapy in ischemic limb disease through growth factor secretion by cultured adipose tissue-derived stromal cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* (2005), 25:2542.

67. Nakagami H, Morishita R, Maeda K, et al.: Adipose tissue-derived stromal cells as a novel option for regenerative cell therapy. *J Atheroscler Thromb* (2006), 13:77.

68. Lina Badimon Adipose-derived Mesenchymal Stem Cells and Their Reparative Potential in Ischemic Heart Disease. *Rev. Esp. Cardiol.* (2015); Vol. 68. Núm. 7. páginas 599-611.

69. Itali M. Linero, Adriana Doncel, Orlando Chaparro. Proliferación y diferenciación osteogénica de células madre mesenquimales en hidrogeles de plasma sanguíneo humano. *Biomédica*, Vol. 34, num1 (2014) pp. 67-68.

70. Gentile P, Orlandi A, Scioli MG, et al. A comparative translational study: the combined use of enhanced stromal vascular fraction and platelet-rich plasma improves fat grafting maintenance in breast reconstruction. *Stem Cells Transl Med*. (2012);1(4):341-351. doi:10.5966/sctm.2011-0065

71. Vigilancia de la seguridad de los medicamentos. Guía para la instalación y puesta en funcionamiento de un centro de farmacovigilancia. Copyright © (2001) The Uppsala Monitoring Centre ISBN 91-631-1561-1

72. Toyserkani, N., Christensen, ML., Sheikh, Søren et al. Adipose-Derived Stem Cells, *Annals of Plastic Surgery*: July (2015) - Volume 75 - Issue 1 - p 117-123 doi: 10.1097/SAP.0000000000000083

73. Giuseppina Onesti M1, Carella S1, Ceccarelli S2, et al. The Use of Human Adipose-Derived Stem Cells in the Treatment of Physiological and Pathological Vulvar Dystrophies. *Stem Cells Int*. (2016);2016:2561461. doi: 10.1155/2016/2561461.

74. Henderson JL. The effects of autologous platelet gel on wound healing *Ear*

Nose Throat J. (2003) Aug;82(8):598-602.

75. Lubach D, Rath JKietzmann M Skin atrophy induced by initial continuous topical application of clobetasol followed by intermittent application *Dermatology*. (1995);19051- 55

76. Tedesco M. The use of PRP (platelet-rich plasma) in patients affected by genital lichen sclerosis: clinical analysis and results. doi: 10.1111/jdv.15190

77. R.A. Ersek, "Transplantation of purified autologous fat: a 3-year follow-up is disappointing," *Plastic and Reconstructive Surgery*, (1991) vol. 87, no. 2, pp. 219–228.

78. Goldstein AT. A randomized double-blind placebo-controlled trial of autologous platelet-rich plasma intradermal injections for the treatment of vulvar lichen sclerosis. *J Am Acad Dermatol*. (2019) Jun;80(6):1788-1789. doi: 10.1016/j.jaad.2018.12.060.

79. Goldstein, A.T., King, M., Runels, C., et al. Intradermal injection of autologous platelet-rich plasma for the treatment of vulvar lichen sclerosis. *J Am Acad Dermatol*. (2017); 76: 158–160

80. Witte MB, Barbul A. General principles of wound healing. *Surg Clin North Am*. (1997); 77:509-28.

81. Lee A, Bradford J, Fischer G. Long-term management of adult vulvar lichen sclerosis: a prospective cohort study of 507 women. *JAMA Dermatol*. (2015);151(10):1061-1067.

82. Carbonell L. La perspectiva del paciente del ensayo clínico. Investigación. *Rev Cubana Salud Pública* (2017) 43 (3) Jul-Sep 2017

83. Gbetoh MH. Mercury. Hydroquinone and clobetasol propionate in skin lightening products in West Africa and Canada. *Environ Res*. (2016) oct; 150:403-410. doi: 10.1016/j.envres.2016.06.030.

84. Hristo Dobrev. The Increased Skin Viscoelasticity - A Possible New Fifth Sign for the Very Early Diagnosis of Systemic Sclerosis. *Current Rheumatology Reviews*, (2013), 9.

85. Dobrev H1. In vivo study of skin mechanical properties in scleredema of Buschke. *Acta Derm Venereol*. (1998) Mar;78(2):103-6.

86. Pallua N, Baroncini A, Alharbi Z, et al. Improvement of facial scar appearance and microcirculation by autologous lipofilling. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. (2014);67(8):1033-7.

87. Draaijers LJ Skin elasticity meter or subjective evaluation in scars: a reliability assessment. *Burns*. (2004) Mar;30(2):109-14.
88. Renaud-Vilmer, C, Cavalier B., Porcher R. Vulvar Lichen Sclerosus Effect of Long-term Topical Application of a Potent Steroid on the Course of the Disease. *Arch Dermatol*. (2004); 140:709-712
89. Galdos Silva S. La conferencia de El Cairo y la afirmación de los derechos sexuales y reproductivos, como base para la salud sexual y reproductiva. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. (2013);30(3):455-60.
90. Thornton K, Chervenak J, Neal-Perry G. et al. Menopause and sexuality. *Endocrinol Metab Clin North Am*. (2015) Sep;44(3):649-61. doi: 10.1016/j.ecl.2015.05.009.
91. Blümel JE, Araya H, Riquelme R, et al. Prevalencia de los Trastornos de la Sexualidad en mujeres climatéricas. Influencia de la menopausia y de la terapia de reemplazo hormonal. *Rev Med Chile* (2002); 130(1): 1131-38.
92. Van de Nieuwenhof HP, Meeuwis KAP, Nieboer TE, et al. The effect of vulvar lichen sclerosus on quality of life and sexual functioning. *J Psychosom Obstet Gynaecol* (2010); 31:279-84.
93. Gutierrez-Ontalvilla P, Botella R, Iborra M, et al. The Female Sexual Function Index to assess patients with moderate to severe vulvar lichen sclerosus. *Eur J Dermatol*. (2019) Aug 1;29(4):430-431. doi: 10.1684/ejd.2019.3580.
94. Lauren E., Marra K., Rubin P. Adipose stem cells: biology and clinical applications for tissue repair and regeneration. *Translational Research*. (April 2014) Volume 163, Issue 4, Pages 399-408
95. Christmann-Schmid C., Heidiger M., Grögers. et al. Vulvar lichen sclerosus in women is associated with lower urinary tract symptoms. *Int Urogynecol J* 29, (2018), 217-221. DOI 10.1007/s00192-017-3358-8
96. Graham-Brown RA, Sarkany I. Lichen sclerosus et atrophicus with primary biliary cirrhosis and lichen planus. *Int J Dermatol* (1986); 25:317

ANEXOS

ANEXO 1

Valoración sintomática y macroscópica (CSS).

Tabla 4A. Síntomas LEV escala CSS

Síntoma	Puntuación (0-10)
Prurito	
Quemazón	
Dolor	
Dispareunia	
TOTAL	

Tabla 4B. Sígnos LEV escala CSS

Signo	Grado 0 (0)	Grado 1 (1)	Grado 2 (2)	TOTAL
Erosiones				
Hiperqueratosis				
Fisuras				
Aglutinación				
Estenosis				
Atrofia				
TOTAL				

En presencia de síntomas sugestivos de LEV, una puntuación de 4 o mayor en la escala de los signos fue sugestiva de la existencia de LEV. La biopsia para la confirmación es obligatoria.

ANEXO 2

Escala 5D Prurito.

Duración: Durante las últimas 2 semanas, ¿Cuántas horas ha sufrido prurito?

- Menos de 6 horas al día (0)
- 6-12 horas/día (1)
- 12-18 h/día (2)
- 18-23h/día (3)
- Todo el día (4)

Grado: Intensidad del prurito durante las últimas dos semanas.

- No presente (0)
- Leve (1)
- Moderado (2)
- Severo (3)
- Insoportable (4)

Dirección: Durante las 2 últimas semanas ¿El prurito ha mejorado o empeorado comparado con el mes anterior?

- Completamente desaparecido (0)
- Mucho mejor pero aún presente (1)
- Ligeramente mejor pero aún presente (2)
- Sin cambios (3)
- Empeoramiento (4)

Incapacidad:

Evalúe el impacto del prurito en las siguientes actividades durante las pasadas dos semanas:

Sueño:

- Nunca afecta al sueño (0)
- Ocasionalmente retrasa inicio del sueño (1)
- Frecuentemente retrasa inicio del sueño (2)
- Retrasa inicio del sueño y ocasionalmente le despierta durante la noche (3)
- Retrasa inicio sueño y frecuentemente le despierta durante la noche (4)

Ocio:

- Nunca afecta a mi tiempo de ocio/vida social (0)
- Rara vez afecta a mi tiempo de ocio/vida social (1)
- Ocasionalmente afecta a mi tiempo de ocio/vida social (2)
- Frecuentemente afecta a mi tiempo de ocio/vida social (3)
- Siempre afecta a mi tiempo de ocio/vida social (4)

Trabajo en casa / Recados:

- Nunca afecta a mi tiempo de trabajo en casa/ recados (0)
- Rara vez afecta a mi tiempo de trabajo en casa/ recados (1)
- Ocasionalmente afecta a mi tiempo de trabajo en casa/ recados (2)
- Frecuentemente afecta a mi tiempo de trabajo en casa/ recados (3)
- Siempre afecta a mi tiempo de trabajo en casa/ recados (4)

Trabajo:

- Nunca afecta a mi tiempo de trabajo (0)
- Rara vez afecta a mi tiempo de trabajo (1)
- Ocasionalmente afecta a mi tiempo de trabajo (2)
- Frecuentemente afecta a mi tiempo de trabajo (3)
- Siempre afecta a mi tiempo de trabajo (4)

ANEXO 3

Escala Skindex-29 versión española.

Tabla 5. Cuestionario Skindex-29

VERSION ESPAÑOLA SKINDEX-29	Nunca (0)	Raramente (1)	A veces (2)	A menudo (3)	Todo el tiempo (4)
1. La piel me duele					
2. La enfermedad de mi piel afecta a mi sueño.					
3. Me preocupa que la enfermedad de mi piel pueda ser algo grave.					
4. Dificulta mi trabajo o aficiones.					
5. Afecta a mi vida social.					
6. La enfermedad de mi piel me deprime.					
7. Quema o escuece.					
8. Tiendo a quedarme en casa debido a mi enfermedad de la piel.					
9. Me preocupa que me queden cicatrices por mi enfermedad de la piel.					
10. La piel me pica.					
11. Mi enfermedad de la piel afecta a mi relación con las personas queridas.					
12. Me avergüenzo de mi enfermedad de la piel.					
13. Me preocupa que mi enfermedad de la piel empeore.					
14. Tiendo a hacer cosas en solitario por culpa de mi enfermedad de la piel.					

15. Estoy enfadado por mi enfermedad de la piel.					
16. El agua empeora mi enfermedad de la piel (baño, lavado de manos).					
17. Mi enfermedad de la piel me dificulta mostrar mi afecto.					
18. Mi piel está irritada.					
19. Mi enfermedad de la piel afecta mi relación con los demás.					
20. Mi enfermedad de la piel me produce situaciones embarazosas.					
21. Mi enfermedad de la piel es un problema para las personas que quiero.					
22. Estoy frustrado por mi enfermedad de la piel.					
23. Mi piel está sensible.					
24. Mi enfermedad de la piel afecta a mi deseo de estar con gente.					
25. Encuentro humillante mi enfermedad de la piel.					
26. Mi enfermedad de la piel sangra.					
27. Me enoja mi enfermedad de la piel.					
28. Mi enfermedad de la piel interfiere con mi vida sexual.					
29. Mi enfermedad de la piel me produce cansancio.					
TOTAL					

ANEXO 4

Índice de función sexual de Rosen (IFS)

Estas preguntas son sobre su sexualidad durante las últimas 4 semanas. Por favor responda las siguientes preguntas lo más honesta y claramente posible. Sus respuestas serán mantenidas completamente confidenciales.

- Actividad sexual: se refiere a caricias, juegos sexuales, masturbación y relaciones sexuales.
- Relación sexual: se define como penetración del pene en la vagina.
- Estimulación sexual: incluye juegos sexuales con la pareja, autoestimulación (masturbación) o fantasías sexuales.
- Deseo o interés sexual: es la sensación que incluye deseo de tener una experiencia sexual, sentirse receptiva a la incitación sexual de la pareja y pensamientos o fantasías sobre tener sexo.

Marque sólo una alternativa por pregunta

1. En las últimas 4 semanas, ¿Cuán a menudo usted sintió deseo o interés sexual?

- Siempre o casi siempre (5)
- La mayoría de las veces (más que la mitad) (4)
- A veces (alrededor de la mitad) (3)
- Pocas veces (menos que la mitad) (2)
- Casi nunca o nunca (1)

2. En las últimas 4 semanas, ¿Cómo clasifica su nivel (intensidad) de deseo o interés sexual?

- Muy alto (5)
- Alto (4)
- Moderado (3)

- Bajo (2)
- Muy bajo o nada (1)

Excitación sexual es una sensación que incluye aspectos físicos y mentales de la sexualidad. Puede incluir sensación de calor o latidos en los genitales, lubricación vaginal (humedad) o contracciones musculares.

3. En las últimas 4 semanas, ¿Con cuanta frecuencia usted sintió excitación sexual durante la actividad sexual?

- No tengo actividad sexual (0)
- Siempre o casi siempre (5)
- La mayoría de las veces (más que la mitad) (4)
- A veces (alrededor de la mitad) (3)
- Pocas veces (menos que la mitad) (2)
- Casi nunca o nunca (1)

4. En las últimas 4 semanas, ¿Cómo clasifica su nivel de excitación sexual durante la actividad sexual?

- No tengo actividad sexual (0)
- Muy alto (5)
- Alto (4)
- Moderado (3)
- Bajo (2)
- Muy bajo o nada (1)

5. En las últimas 4 semanas, ¿Cuánta confianza tiene usted de excitarse durante la actividad sexual?

- No tengo actividad sexual (0)
- Muy alta confianza (5)
- Alta confianza (4)

- Moderada confianza (3)
- Baja confianza (2)
- Muy baja o nada de confianza (1)

6. En las últimas 4 semanas, ¿Con qué frecuencia se sintió satisfecho con su excitación durante la actividad sexual?

- No tengo actividad sexual (0)
- Siempre o casi siempre (5)
- La mayoría de las veces (más que la mitad) (4)
- A veces (alrededor de la mitad) (3)
- Pocas veces (menos que la mitad) (2)
- Casi nunca o nunca (1)

7. En las últimas 4 semanas, ¿Con cuanta frecuencia usted sintió lubricación o humedad vaginal durante la actividad sexual?

- No tengo actividad sexual (0)
- Siempre o casi siempre (5)
- La mayoría de las veces (más que la mitad) (4)
- A veces (alrededor de la mitad) (3)
- Pocas veces (menos que la mitad) (2)
- Casi nunca o nunca (1)

8. En las últimas 4 semanas, ¿le es difícil lubricarse (humedecerse) durante la actividad sexual?

- No tengo actividad sexual (0)
- Extremadamente difícil o imposible (1)
- Muy difícil (2)
- Difícil (3)
- Poco difícil (4)

- No me es difícil (5)

9. En las últimas 4 semanas, ¿Con qué frecuencia mantiene su lubricación (humedad) vaginal hasta finalizar la actividad sexual?

- No tengo actividad sexual (0)
- Siempre o casi siempre la mantengo (5)
- La mayoría de las veces la mantengo (más que la mitad) (4)
- A veces la mantengo (alrededor de la mitad) (3)
- Pocas veces la mantengo (menos que la mitad) (2)
- Casi nunca o nunca mantengo la lubricación vaginal hasta el final (1)

10. En las últimas 4 semanas, ¿Le es difícil mantener su lubricación (humedad) vaginal hasta finalizar la actividad sexual?

- No tengo actividad sexual (0)
- Extremadamente difícil o imposible (1)
- Muy difícil (2)
- Difícil (3)
- Poco difícil (4)
- No me es difícil (5)

11. En las últimas 4 semanas, cuando usted tiene estimulación sexual o relaciones, ¿Con qué frecuencia alcanza el orgasmo o clímax?

- No tengo actividad sexual (0)
- Siempre o casi siempre (5)
- La mayoría de las veces (más que la mitad) (4)
- A veces (alrededor de la mitad) (3)
- Pocas veces (menos que la mitad) (2)
- Casi nunca o nunca (1)

12. En las últimas 4 semanas, cuando usted tiene estimulación sexual o relaciones, ¿Le es difícil alcanzar el orgasmo o clímax?

- No tengo actividad sexual (0)
- Extremadamente difícil o imposible (1)
- Muy difícil (2)
- Difícil (3)
- Poco difícil (4)
- No me es difícil (5)

13. En las últimas 4 semanas, ¿Cuan satisfecha está con su capacidad para alcanzar el orgasmo (clímax) durante la actividad sexual?

- No tengo actividad sexual (0)
- Muy satisfecha (5)
- Moderadamente satisfecha (4)
- Ni satisfecha ni insatisfecha (3)
- Moderadamente insatisfecha (2)
- Muy insatisfecha (1)

14. En las últimas 4 semanas, ¿Cuan satisfecha está con la cercanía emocional existente durante la actividad sexual entre usted y su pareja?

- No tengo actividad sexual (0)
- Muy satisfecha (5)
- Moderadamente satisfecha (4)
- Ni satisfecha ni insatisfecha (3)
- Moderadamente insatisfecha (2)
- Muy insatisfecha (1)

15. En las últimas 4 semanas, ¿Cuan satisfecha está con su relación sexual con su pareja?

- Muy satisfecha (5)
- Moderadamente satisfecha (4)
- Ni satisfecha ni insatisfecha (3)
- Moderadamente insatisfecha (2)
- Muy insatisfecha (1)

16. En las últimas 4 semanas, ¿Cuan satisfecha está con su vida sexual en general?

- Muy satisfecha (5)
- Moderadamente satisfecha (4)
- Ni satisfecha ni insatisfecha (3)
- Moderadamente insatisfecha (2)
- Muy insatisfecha (1)

17. En las últimas 4 semanas, ¿Cuan a menudo siente discomfort o dolor durante la penetración vaginal?

- No tengo actividad sexual (0)
- Siempre o casi siempre (1)
- La mayoría de las veces (más que la mitad) (2)
- A veces (alrededor de la mitad) (3)
- Pocas veces (menos que la mitad) (4)
- Casi nunca o nunca (5)

18. En las últimas 4 semanas, ¿Cuan a menudo siente discomfort o dolor después de la penetración vaginal?

- No tengo actividad sexual (0)
- Siempre o casi siempre (1)
- La mayoría de las veces (más que la mitad) (2)
- A veces (alrededor de la mitad) (3)

- Pocas veces (menos que la mitad) (4)
- Casi nunca o nunca (5)

19. En las últimas 4 semanas, ¿Cómo clasifica su nivel (intensidad) de discomfort o dolor durante o después de la penetración vaginal?

- No tengo actividad sexual (0)
- Muy alto (1)
- Alto (2)
- Moderado (3)
- Bajo (4)
- Muy bajo o nada (5)

Tabla 6. Corrección del índice de función sexual

Preguntas	Puntuación	Multiplicar	Score
Preguntas 1, 2		x 0,6 =	1,2 - 6
Preguntas 3, 4, 5, 6		x 0,3 =	0 - 6
Preguntas 7, 8, 9, 10		x 0,3 =	0 - 6
Preguntas 11, 12, 13		x 0,4 =	0 - 6
Preguntas 14, 15, 16		x 0,4 =	0 - 6
Preguntas 17, 18, 19		x 0,4 =	0 - 6
Rango total de la escala			2 - 36

ANEXO 5

Hoja de instrucciones para el paciente del grupo Tratamiento.

HOJA DE INSTRUCCIONES PARA EL PACIENTE

1. Rasúrese (aféitese) la zona vulvar el día antes de la intervención.
2. Ducha con agua y jabón el mismo día de la intervención antes de venir al hospital (NO use crema hidratante, ni perfumes, ni desodorantes, ni maquillaje).
3. Si el día de la intervención está con la menstruación, háganoslo saber a su llegada a la UCSI o al quirófano y acuda a la intervención con compresa o tampón.
4. Retire el esmalte de uñas de manos y pies antes de venir al hospital.
5. Deje en casa pendientes, anillos, piercings, reloj y todo lo metálico.
6. Debe estar en ayunas desde las 12 de la noche (mínimo 8 horas). Después de esa hora no debe tomar nada sólido ni líquido, ni agua, ni chicles, etc.
7. Ingresará a la hora que se le indique en la UCSI (Unidad de Cirugía Sin Ingreso).
8. Una vez haya sido intervenida, permanecerá unas horas en la UCSI hasta su recuperación.
9. Una vez se le dé el alta hospitalaria, deberá guardar reposo en su casa durante al menos 24 horas.
10. Seguirá las instrucciones postoperatorias que se le den, sobre todo lo relacionado con la actividad física, medicación y visitas de control. Dichas instrucciones estarán reflejadas además por escrito en el documento de alta hospitalaria.

ANEXO 6

Checklist anamnesis visita 1

- Fecha de nacimiento .../...../.....
- RAM (redondee lo que proceda) si/no
- Fecha diagnostico liquen escleroso/..../.....
- Tiempo evolución desde aparición síntomas hasta diagnóstico:meses
- Tiempo evolución desde diagnostico hasta inclusión en estudio:meses
- Hª familiar de LE (redondee lo que proceda) si/no
- Consumo alcohol (redondee lo que proceda) si/no
- Hábito tabáquico (redondee lo que proceda) si/no
- Tratamiento actual farmacológico otras enfermedades:
- Tratamiento tópico inicial LE y fecha/...../.....
- Antecedentes de ETS (redondee lo que proceda) si/no
- Antecedentes familiares de enfermedades autoinmunes (redondee lo que proceda) si/no: vitiligo, DM, tiroiditis, alopecia Areata, EII
- Biopsia previa (redondee lo que proceda) si/no y fecha.../..../.....
- Bioquímica
- Hemograma
- Hemostasia
- ANA, anticuerpos antitiroideos, anticuerpos anticélula parietal, anticuerpos. antimicrosomales
- Hormonas tiroideas
- VSG, PCR
- HLA DQ7
- Beta-HCG

ANEXO 7

Hoja de información al paciente.

HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

Código de Protocolo: LIQUENIA	EUDRACT: 2016-003952-63	Promotor: Instituto de Investigación Sanitaria La Fe
Versión: 2	Fecha de la versión: 19/07/2017	
Nombre del Investigador Principal: Patricia Gutiérrez Ontalvilla	Datos de contacto: 961244295	Centro: Hospital Universitario i politènic La fe Servicio: Cirugía Plástica
Título del ensayo: "Estudio piloto del tratamiento del liquen escleroso vulvar mediante tejido adiposo asociado a plasma rico en plaquetas autólogos".		

1. INTRODUCCIÓN:

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un ensayo clínico en el que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación con medicamentos correspondiente y la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios, de acuerdo a la legislación vigente, el Real Decreto 1090/2015, de 4 de diciembre, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos.

Nuestra intención es tan sólo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este ensayo. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Además, puede consultar con las personas que considere oportuno.

2. PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA:

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico ni se produzca perjuicio alguno en su tratamiento.

3. DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ENSAYO:

El liquen escleroso es una enfermedad inflamatoria crónica de la piel genital y extragenital con preferencia por la región anogenital. La causa del liquen escleroso es desconocida y probablemente sea debida a muchos factores, aunque cada vez se relaciona más con un mecanismo autoinmune.

Si da su consentimiento para participar en este estudio, se realizará una revisión de su historia médica para comprobar que cumple todos los requisitos para entrar en el estudio. Además, se solicitará una analítica, se tomará una pequeña biopsia o muestra de piel de la zona afectada de su vulva bajo anestesia local, y finalmente, se evaluará la elasticidad mediante la aplicación de un aparato en la zona de la vulva afectada que ejerce una pequeña succión indolora. Durante la primera visita de le tomará fotografías de la zona de la vulva afectada.

Si finalmente cumple todos los requisitos para entrar en el estudio, se le asignará a uno de los 2 grupos posibles de tratamiento de forma aleatoria, es decir, al azar. Un grupo recibirá el mantenimiento de la terapia tópica con corticoides (clobetasol 0,05%) que se estuviera administrando por práctica clínica, con el mismo fármaco y a la misma dosis. El otro grupo recibirá el tratamiento experimental explicado a continuación: se le administrará mediante infiltración una pequeña cantidad de su propia grasa (20 centímetros cúbicos) junto con otra cantidad de su propio plasma rico en plaquetas (4 centímetros cúbicos).

Todo el proceso se lleva a cabo en quirófano. La anestesia utilizada será una anestesia local y sedación, para que no sienta ninguna clase de dolor en la zona a tratar (periné, cara interna de los muslos, zona del pubis o monte de venus). Usted como paciente permanecerá después de salir de quirófano unas horas en la unidad de cirugía sin ingreso y será dada de alta el mismo día cuando se encuentre bien. En quirófano, procederemos, mediante liposucción de la cara interna de los muslos o de la zona del monte de venus, a la toma de una pequeña cantidad de tejido graso (en torno a 20-30cc). Trataremos este tejido graso mediante centrifugación (consiste en someter la grasa a una fuerza centrífuga (3000 vueltas por minuto durante 3 minutos) o aceleración en una máquina para ello con el fin de separar los componentes de la grasa (aceite libre, glóbulos rojos, células grasas) y lo asociaremos con 4cc de su propio plasma que obtendremos mediante la misma técnica que se usa para un análisis de su sangre. Procederemos a la inyección de este producto (grasa y plasma rico en plaquetas) en las zonas de su vulva afectadas por el Liquen escleroso.

A los tres meses de la primera infiltración con su grasa y su plasma rico en plaquetas realizaremos una segunda sesión de infiltración en quirófano en las mismas condiciones y cantidades.

A los 6 meses del tratamiento en quirófano en el caso del grupo experimental, o del tratamiento tópico en el caso del grupo control, tomaremos otra biopsia o muestra de piel bajo anestesia local en consultas externas de Dermatología. Mandaremos las muestras a analizar para ver los cambios sucedidos **después** del tratamiento y los compararemos con los hallazgos de la biopsia tomada **antes** del tratamiento.

Usted será controlada en consultas externas de Dermatología con:

- Una visita al mes de la primera infiltración (si pertenece al grupo de tratamiento) o al mes de la visita basal (si pertenece al grupo control): evaluación clínica, fotografía de la zona tratada, cuestionario de síntomas, de calidad de vida y evaluación de elasticidad.
- Una visita a los tres meses de la primera infiltración (si pertenece al grupo de tratamiento) o a los tres meses de la visita basal (si pertenece al grupo control): evaluación clínica, fotografía de la zona tratada, cuestionario de síntomas, de calidad de vida y evaluación de elasticidad).
- A los seis meses de la primera infiltración (si pertenece al grupo de tratamiento) o a los seis meses de la visita basal (si pertenece al grupo control) se procederá bajo anestesia local en las consultas de Dermatología a la toma de una biopsia de las zonas tratadas además de la evaluación clínica, fotográfica y cuestionario de síntomas y de calidad de vida y evaluación de elasticidad.
- Al año de la inclusión en el estudio volveremos a verla en la consulta para una evaluación clínica, toma de fotografías de la zona tratada y control de la evolución de su enfermedad. Usted seguirá siendo controlada por dermatólogos según la práctica habitual.

La evaluación de la elasticidad se hará mediante un aparato específico para ello. Se mide mediante la aplicación de un aparato en la zona de la vulva afectada que ejerce una pequeña succión indolora.

Este será el calendario de visitas y cada una de las pruebas que se le realizarán:

	Visita 0 Selección	Visita 1 Basal	Visita 2 Preestésica ³	Visita 3 Tratamiento en quirófano	Visita 4 (1 mes post Tratamiento) ⁴	Visita 5 (3 meses post Tratamiento) ⁴	Visita 6 (6 meses post Tratamiento) ⁴	Visita 7 (12 meses post Tratamiento) ⁴
Firma HIP y CI	X							
Revisión de criterios de selección	X	X						
Aleatorización		X						
Anamnesis	X		X					
Analítica	X							
Medida elasticidad	X				X	X	X	X
Toma de fotografía	X	X			X	X	X	X
Escala de afectación histológica	X			X			X	
Escala afectación clínica		X			X		X	X
Dolor		X			X		X	X
Escala 4D del purito		X			X		X	X
Skindex -29		X			X		X	X
Índice de función sexual (IFS)		X			X		X	X
Biopsia ²	X						X	
Infiltración de Tj.adiposo + PRP				X		X		

Todas las visitas tienen un periodo de ventana de 315 días.

¹ Analítica: Hemograma, Bioquímica con glucosa. Anticuerpos (ANA antitiroideos, anticélula parietal, antimicrosomales), hormonas tiroideas, hemostasia,

Reactantes de fase aguda RFA (PCR, VSG), HLADQ7 y prueba de embarazo con determinación de beta-HCG en sangre.

² *Biopsia: punch 4mm de una placa de la zona vulvar afectada.*

³ *La visita 2 (preanestésica) y la visita 3 (tratamiento en quirófano) sólo tendrá lugar en el grupo de tratamiento (Grupo 2).*

⁴ *En las pacientes del grupo control estas visitas se realizarán teniendo en cuenta la visita basal.*

4. BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO:

A pesar de que el tratamiento con corticoides tópicos parece solucionar los principales síntomas del liquen escleroso, tienden a persistir los daños en la forma, volumen y arquitectura de los labios mayores, menores, clítoris, entrada de la vagina, así como la atrofia y la piel cicatricial.

Recientes estudios han demostrado que el tejido adiposo posee propiedades anti-inflamatorias e inmunomoduladoras. El efecto final se traduce en una disminución de la fibrosis. El PRP (plasma rico en plaquetas) es una concentración aumentada de plaquetas humanas en un volumen pequeño de plasma, así como una fuente de factores de crecimiento que pueden mejorar los procesos de cicatrización y de regeneración de las zonas tratadas. Tanto el tejido graso como el plasma utilizados en este estudio pertenecen al propio paciente.

Las mujeres embarazadas no pueden entrar en este estudio. En el caso de que una mujer incluida en el estudio se quedase embarazada, se la sacará del estudio y su enfermedad dermatológica (liquen escleroso) seguirá siendo controlada y tratada por los dermatólogos del servicio de dermatología según la práctica habitual, y el seguimiento y control de su embarazo se llevará a cabo por los ginecólogos obstetras que le correspondan por zona o que ella elija libremente.

Usted debe saber que puede que no haya ningún beneficio por su participación en el estudio.

La cantidad de grasa suya que vamos a necesitar para el tratamiento es pequeña, apenas 20 centímetros cúbicos. **En ningún momento se le va a realizar una liposucción estética para disminuir el volumen de las zonas donantes.**

Se considerarán como Acontecimiento Adverso (AA) cualquier empeoramiento de la gravedad o frecuencia de una enfermedad concomitante o cualquier enfer-

medad diagnosticada en el periodo de ensayo y puede no existir relación causal con el tratamiento aplicado. Usted se pondrá en contacto con las consultas externas de Dermatología (961244295) vía telefónica para comunicarlo en el plazo de 48-72 horas desde la aparición del efecto adverso.

Una reacción adversa (RA) es cualquier respuesta desfavorable y no intencionada al medicamento que se sospecha que tiene una relación causal con el tratamiento. Usted se pondrá en contacto con las consultas externas de Dermatología (961244295) vía telefónica para comunicarlo en el plazo de 48-72 horas desde la aparición de la reacción adversa. El investigador evaluará la intensidad. El grado de intensidad es una observación clínica y describe la intensidad del acontecimiento según las tres categorías siguientes:

- Leve: Síntomas transitorios, sin interferencia con las actividades diarias del paciente.
- Moderado: Síntomas marcados, interferencia moderada con las actividades diarias del paciente.
- Grave: Interferencia considerable con las actividades diarias del paciente.

Serán Reacciones adversas (RA) leves: (no hará falta el reporte telefónico).

- Inflamación o edema de las zonas tratadas.
- Hematomas en las zonas tratadas.
- Sangrado intermitente y leve (manchado) de las zonas tratadas.
- Cambios en la sensibilidad cutánea temporales.
- Irregularidades en el contorno de la piel y asimetrías (normalmente asociado a la liposucción/lipoinyección de grandes volúmenes de tejido adiposo y a tono pobre de la piel).

Serán reacciones adversas (RA) moderadas: necesario reporte telefónico (961244295) en las primeras 48-72 horas desde la aparición.

- Reacciones alérgicas locales al esparadrapo de papel, material de sutura.
- Inflamación o edema de las zonas tratadas que interfiera de forma moderada con las actividades cotidianas.

- Hematomas o sangrado de las zonas tratadas que interfiera de forma moderada con las actividades cotidianas.
- Seromas o acumulación de fluidos que interfiera de forma moderada con las actividades cotidianas.
- Infección de las zonas tratadas.

Serán reacciones adversas (RA) graves: Necesario reporte telefónico (961244295) en las primeras 24 horas desde la aparición.

- Hemorragia o sangrado franco.
- Inyección intraarterial de tejido adiposo autólogo. Esto puede producir necrosis cutánea de la zona circundante a la inyección. El riesgo y las consecuencias de la inyección intravascular accidental son desconocidos y no predecibles.
- Embolia grasa, ocurre cuando se atrapan gotas de grasa en los pulmones. Es una complicación grave y muy rara del lipofilling. Puede necesitar tratamiento adicional y hospitalización.

Dentro de los **posibles riesgos** asociados al tratamiento con inyección de grasa propia y plasma rico en plaquetas propio cabe señalar:

- **Infección de la zona tratada:** Es infrecuente tras este tipo de procedimiento. Si ocurriera, podría ser necesario que tuviera que tomar antibióticos o en casos graves cirugía para limpiar el foco de la infección.
- **Hinchazón o edema:** La hinchazón de las zonas tratadas (vulva, labios mayores, menores, capuchón del clítoris, cara interna de muslos o zona del pubis o monte de venus) depende de la zona tratada, y de las características personales de cada paciente.
- **Hematomas y sangrado:** Es muy frecuente la aparición de moratones o hematomas superficiales, que suelen desaparecer a los pocos días. Es posible, aunque muy raro, que haya un episodio de hemorragia sangrado durante o después de la cirugía. Si ocurriera una hemorragia después de la cirugía, podría requerir tratamiento de urgencia para drenar la sangre acumulada, o incluso la transfusión de sangre si usted lo necesitara. No debe tomar aspirina ni medicamentos antiinflamatorios tipo Naproxeno, Ibuprofeno, etc. desde 10 días antes de la cirugía, puesto que ello podría aumentar el riesgo de sangrado.

- **Cambios en la sensibilidad cutánea:** Es normal que la sensibilidad cutánea esté alterada o “rara” después de la cirugía, normalmente se resuelve pasados un par de meses. La pérdida total de la sensibilidad es poco frecuente, pero podría producirse.
- **Cicatrización:** Se espera una buena curación de las incisiones pequeñas por las que sacamos o inyectamos la grasa. Si usted tiene tendencia a los queloides, háganoslo saber ya que podría no ser una buena candidata para este tratamiento.
- **Irregularidades del contorno de la piel:** Cuando sacamos o inyectamos grandes volúmenes de grasa, pueden ocurrir irregularidades y depresiones de la piel. Aunque en este caso la cantidad de grasa que sacamos es pequeña, si quedan irregularidades en la piel, puede ser necesaria una cirugía para corregírselo.
- **Asimetría:** Puede no conseguirse una simetría total del cuerpo tras una liposucción o relleno con grasa propia. A veces el tono de la piel si es pobre, diferencias en las prominencias de los huesos de uno y otro lado, y si el tono muscular es pobre, pueden contribuir a una asimetría
- **Inyección intraarterial:** Es muy raro que se inyecte accidentalmente en arterias pequeñas y produzca una obstrucción del flujo sanguíneo. Esto puede producir necrosis de la piel en la zona. El riesgo y las consecuencias de la inyección dentro de un vaso sanguíneo accidental son desconocidos y no predecibles.
- **Complicaciones pulmonares:** El síndrome de embolismo graso ocurre cuando se atrapan gotas de grasa en los pulmones. Es una complicación grave y muy rara de la liposucción y del relleno de grasa. Puede necesitar tratamiento adicional y hospitalización.
- **Seroma:** Es infrecuente que se produzca una acumulación de fluidos o líquido en la zona de donde se saca o se infiltra el tejido graso. En el caso que se produjeran, se pueden requerir tratamientos o incluso cirugía para drenar dicha acumulación de fluidos.
- **Efectos a largo plazo:** Como resultado del proceso de envejecimiento, pérdida o ganancia de peso, embarazo u otras circunstancias no relacionadas con la liposucción o inyección del tejido graso puede variar la forma que se le quedó tras el tratamiento
- **Reacciones alérgicas:** En algunos casos se han observado alergias locales al esparadrapo, material de sutura (puntos) o cremas antibióti-

cas o cicatrizantes. Las reacciones sistémicas o generales, que son más serias, pueden producirse por medicaciones usadas durante la cirugía, anestesia o por medicinas que podemos prescribirlas para usar en su casa. Las reacciones alérgicas pueden requerir tratamiento adicional para solucionar el cuadro.

- **Anestesia:** Tanto la anestesia local como la general implican un riesgo. Existe la posibilidad de complicaciones y lesiones, por cualquiera de las formas de anestesia o sedación.
- **Otros:** Usted puede estar insatisfecho con los resultados del procedimiento. Es poco frecuente que se necesite realizar cirugía adicional para mejorar los resultados.

5. TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS:

No tiene que participar en este estudio para recibir tratamiento.

Si tiene preguntas acerca de los tratamientos alternativos y sus posibles ventajas y riesgos, pida más información al médico del estudio.

Dentro de los tratamientos alternativos para el liquen escleroso vulvar se encuentra la terapia tópica de corticoides. El principio activo más utilizado en la práctica clínica es el propionato de clobetasol al 0,05%. En el caso de no participar en este estudio, usted sería tratada con este fármaco a dosis de mantenimiento o a dosis de brote si usted sufriera una exacerbación de su enfermedad. El médico responsable de este estudio le dará más información al respecto si usted así lo desea. Si durante el tratamiento o después de la inyección de la mezcla de tejido grado y plasma rico en plaquetas, usted sufriera un empeoramiento de su enfermedad (liquen escleroso), se pondrá en contacto con las consultas externas del servicio de dermatología (961244295) para nueva valoración en consulta externas e instauración del tratamiento y de las dosis adecuadas.

6. SEGURO:

El promotor del estudio dispone de una póliza de seguros que se ajusta a la legislación vigente (Real Decreto 1090/2015, de 4 de diciembre, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos), que le proporcionará la compensación e indemnización correspondientes en caso de menoscabo de su salud o de lesiones que pudieran producirse en relación con su participación en el estudio. Esta póliza está contratada con la compañía HDI, con nº de póliza 08058090-14208

En caso que se necesiten cuidados médicos, los gastos ocasionados por ello es responsabilidad del Promotor.

En el caso de que disponga de un seguro privado de enfermedad o vida, recomendamos que consulte las cláusulas del mismo, por si pudieran interferir con las coberturas cuando los pacientes participan en ensayos clínicos.

7. N° DE URGENCIA PARA PROBLEMAS DEL ENSAYO:

En caso de que desee formular preguntas acerca del estudio o daños relacionados con el mismo, contactar con la médica del estudio Dra. Gutiérrez Ontalvilla en el número de teléfono 961244295.

8. CONFIDENCIALIDAD.

Durante el estudio se llevarán a cabo extracciones de tejido adiposo y de sangre para la obtención de plasma rico en plaquetas. Todo tejido autólogo que no se utilice en el paciente será desechado en ese mismo instante no procediendo de ninguna manera a la conservación.

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes, se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre de protección de datos de carácter personal. De acuerdo a lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse a su médico del estudio. Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y sólo su médico del estudio o colaboradores podrán relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica. Por lo tanto, su identidad no será revelada a persona alguna salvo excepciones, en caso de urgencia médica o requerimiento legal.

Sólo se tramitarán a terceros y a otros países los datos recogidos para el estudio, que en ningún caso contendrán información que le pueda identificar directamente, como nombre y apellidos, iniciales, dirección, número de la seguridad social, etc. En el caso de que se produzca esta cesión, será para los mismos fines del estudio descrito y garantizando la confidencialidad como mínimo con el nivel de protección de la legislación vigente en nuestro país.

El acceso a su información personal quedará restringido al médico del estudio, colaboradores, autoridades sanitarias (Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios), al Comité Ético de Investigación Clínica y personal autorizado por el promotor, cuando lo precisen para comprobar los datos y procedimientos

del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente. El acceso a su historia clínica ha de ser sólo en lo relativo al estudio.

El responsable del registro de datos en la Agencia Española de Protección de Datos será el Instituto de Investigación Sanitaria La Fe.

9. COMPENSACIÓN ECONÓMICA:

El promotor del estudio es el responsable de gestionar la financiación del mismo, por lo que su participación en este no le supondrá ningún gasto. Usted no tendrá que pagar por los medicamentos que le suministren en el estudio.

Debe saber que no recibirá compensación económica por participar en el estudio.

10. OTRA INFORMACIÓN RELEVANTE:

Cualquier nueva información referente a los fármacos utilizados en el estudio que se descubra durante su participación y que pueda afectar a su disposición para participar en el estudio, le será comunicada por su médico lo antes posible.

Si usted decide retirar el consentimiento para participar en este estudio, no se añadirá ningún dato nuevo a la base de datos y, puede exigir la destrucción de todas las muestras identificables previamente obtenidas para evitar la realización de nuevos análisis.

También debe saber que puede ser excluido del estudio si el promotor o los investigadores del mismo lo consideran oportuno, ya sea por motivos de seguridad, por cualquier acontecimiento adverso que se produzca por la mediación en estudio o porque consideren que usted no está cumpliendo con los procedimientos establecidos. En cualquiera de los casos, usted recibirá una explicación adecuada del motivo por el que se ha decidido su retirada del estudio.

El promotor podrá suspender el ensayo siempre y cuando sea por alguno de los supuestos contemplados en el Real Decreto.

Al firmar la hoja de consentimiento adjunta, se compromete a cumplir con los procedimientos del estudio que se le han expuesto. Cuando acabe su participación recibirá el mejor tratamiento disponible y el que su médico considere el más adecuado para su enfermedad, pero es posible que no se le pueda seguir administrando la medicación objeto del presente estudio. Por lo tanto, ni el investigador, ni el promotor, adquieren compromiso alguno de mantener dicho tratamiento fuera de este estudio.

ANEXO 8

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del ensayo: *“Estudio piloto del tratamiento del liquen escleroso vulvar mediante tejido adiposo asociado a plasma rico en plaquetas autólogos”*.

Yo, _____ (*nombre y apellidos*).

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con: _____ (*nombre del Investigador*)

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

1º Cuando quiera

2º Sin tener que dar explicaciones.

3º Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Doy mi consentimiento para que se me tomen fotografías de la zona vulvar preservándose en todo momento mi identidad.

Firma del Participante

Firma del Investigador

Fecha: _____

Fecha: _____

Recibiré una copia de esta hoja de información al paciente y documento de consentimiento informado.

CONSENTIMIENTO ORAL ANTE TESTIGOS

La declaración del testigo imparcial es obligatoria cuando el paciente, el padre o madre, el tutor o el representante legal no sepan leer o escribir.

Título del ensayo: *“Estudio piloto del tratamiento del liquen escleroso vulvar mediante tejido adiposo asociado a plasma rico en plaquetas autólogos”.*

Yo, _____ (*nombre y apellidos*).

He recibido la hoja de información sobre el estudio.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He sido informado por: (*nombre del investigador*)

Declaro bajo mi responsabilidad que: _____ (*nombre del participante del ensayo*)

Comprende que su participación es voluntaria.

Comprende que puede retirarse del estudio:

1º Cuando quiera

2º Sin tener que dar explicaciones.

3º Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Y ha expresado libremente su conformidad para participar en el estudio.

Ha dado su consentimiento para que se me tomen fotografías de la zona vulvar preservándose en todo momento su identidad.

Firma del Testigo

Firma del Investigador

Fecha: _____

Fecha: _____

Recibirá una copia de esta hoja de información al paciente y documento de consentimiento informado.

CONSENTIMIENTO DEL REPRESENTANTE LEGAL

Título del ensayo: *“Estudio piloto del tratamiento del liquen escleroso vulvar mediante tejido adiposo asociado a plasma rico en plaquetas autólogos”*.

Yo, _____ (*nombre y apellidos del representante*).

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con: (nombre del Investigador)

Comprendo que la participación en el estudio es voluntaria

Doy mi consentimiento para que se me tomen fotografías de la zona vulvar preservándose en todo momento mi identidad.

Comprendo que es posible retirarse del estudio:

1º Cuando así lo quiera el participante

2º Sin tener que dar explicaciones.

3º Sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.

En mi presencia se ha dado a _____
_____ (*nombre del participante*), toda la información pertinente adaptada a su nivel de entendimiento y está de acuerdo en participar.

Y presto mi conformidad con que _____
_____ (*nombre del participante*) participe en el estudio.

Firma del Representante

Firma del Investigador

Fecha: _____

Fecha: _____

Recibirá una copia de esta hoja de información al paciente y documento de consentimiento informado.

ANEXO 9

Consentimiento de toma de fotografías.

HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE Y FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

USO DE FOTOGRAFÍAS PARA FINES ADICIONALES

Código de Protocolo: Liquenia	EUDRACT: 2016-003952-63	Promotor: Instituto de Investigación Sanitaria La Fe
---	-----------------------------------	--

Versión: 1	Fecha de la versión: 03/04/2017
-------------------	--

Nombre del Investigador Principal: Patricia Gutiérrez Ontalvilla	Centro: Hospital Universitari i polítènic La fe
Datos de contacto: 961244295	Servicio: Cirugía Plástica

Título del ensayo: "Estudio piloto del tratamiento del liquen escleroso vulvar mediante tejido adiposo asociado a plasma rico en plaquetas autólogos".

5. INTRODUCCIÓN:

Ya ha firmado una hoja de consentimiento por la que permite al personal del ensayo tomar fotografías del área de tratamiento seleccionada durante su participación en el estudio.

El consentimiento anterior permite al promotor del estudio utilizar las fotografías para valorar la posible mejoría de las lesiones y evaluar si el tratamiento mejora los procesos de cicatrización y de regeneración de las zonas tratadas

La finalidad de esta hoja es preguntarle si consiente que las fotos del área de tratamiento se utilicen para fines adicionales.

6. PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA:

Debe saber que no está obligado a aceptar que sus fotografías se utilicen para estos fines adicionales.

Puede revocar su consentimiento en cualquier momento antes de que se utilicen de cualquier modo las fotografías para cualquiera de los fines descritos en esta hoja. Una vez que las fotografías se hayan utilizado para cualquiera de los fines descritos, tan solo será posible revocar el consentimiento para usos futuros (nuevos) de las fotografías.

En caso de que revoque su consentimiento, no se alterará la relación con su médico ni se producirá perjuicio alguno en su tratamiento.

7. FINES ADICIONALES DE LAS FOTOGRAFÍAS

Al firmar esta hoja, consiente que las fotos del área de tratamiento tomadas durante el estudio (al mes, 3 meses, 6 meses y 12 meses del tratamiento) se utilicen para los siguientes fines adicionales:

- Como parte de materiales de presentación de los resultados, destinados exclusivamente al profesional sanitario.
- Como parte de ponencias científicas para otros investigadores.
- Para publicarse en revistas y libros científicos.

Si consiente que sus fotografías se utilicen para estos fines adicionales y, posteriormente, cambia de opinión, indíquesele al médico o al personal del ensayo.

8.CONFIDENCIALIDAD:

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los participantes, se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre de protección de datos de carácter personal. De acuerdo a lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse al médico del estudio. Las fotografías tomadas para el estudio estarán identificadas mediante un código y sólo el médico del estudio o colaboradores podrán relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica. El investigador principal del estudio será el responsable de dicho registro. Por lo tanto, su identidad no será revelada a persona alguna salvo excepciones, en caso de urgencia médica o requerimiento legal.

El acceso a su información personal quedará restringido al médico del estudio, colaboradores, autoridades sanitarias (Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios), al Comité de Ética de la Investigación y personal autorizado

por el promotor, cuando lo precisen para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente.

El promotor garantiza su anonimato. Se difuminará o cubrirá cualquier facción que pueda identificarle, tal y como se hará para los fines previstos para las fotografías en este ensayo.

Si desea obtener más información acerca de cómo se protegerán sus datos mientras participa en este ensayo, consulte al médico o al personal del ensayo. Podrá formular las preguntas que tenga con respecto al estudio y al uso de las fotografías en cualquier momento. Puede contactar al médico del ensayo en cualquier momento si tiene alguna inquietud o queja.

9. OTRA INFORMACIÓN RELEVANTE:

Permitir que el promotor utilice las fotografías para estos fines adicionales no le ayudará de modo alguno.

No recibirá ningún pago por permitir al promotor que utilice las fotografías para estos fines adicionales. Si alguien utiliza las fotografías en reuniones científicas, con fines formativos o en revistas o libros científicos, tampoco se le pagará. El promotor será propietario de los derechos de las fotografías.

Tiene derecho a ver las fotografías que se tomen del área de tratamiento.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del ensayo: *“Estudio piloto del tratamiento del liquen escleroso vulvar mediante tejido adiposo asociado a plasma rico en plaquetas autólogos”*.

Yo, _____ (*nombre y apellidos*).

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el uso adicional de las fotografías que se tomarán durante el estudio.

He recibido suficiente información acerca de las fotografías del estudio

He hablado con: _____ (*nombre del Investigador*)

Comprendo que la participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirar el consentimiento:

1º Cuando quiera

2º Sin tener que dar explicaciones.

3º Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Presto libremente mi conformidad para que se utilicen las fotografías que se tomen durante el estudio de la forma descrita.

Firma del Participante

Firma del Investigador

Fecha: _____

Fecha: _____

El investigador certifica que el participante ya mencionado ha tenido tiempo suficiente para considerar esta información, ha tenido la posibilidad de formular preguntas y ha aceptado voluntariamente que se utilicen las fotografías que se hagan en el estudio de la forma descrita.

Recibiré una copia de esta hoja de información al paciente y documento de consentimiento informado.

CONSENTIMIENTO ORAL ANTE TESTIGOS

La declaración del testigo imparcial es obligatoria cuando el paciente, el padre o madre, el tutor o el representante legal no sepan leer o escribir.

Título del ensayo: *“Estudio piloto del tratamiento del liquen escleroso vulvar mediante tejido adiposo asociado a plasma rico en plaquetas autólogos”*.

Yo, _____ *(nombre y apellidos)*.

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el uso adicional de las fotografías que se tomarán durante el estudio.

He recibido suficiente información acerca de las fotografías del estudio.

He sido informado por: _____
(nombre del investigador)

Declaro bajo mi responsabilidad que: _____ *(nombre del participante del ensayo)*

Comprende que su participación es voluntaria.

Comprende que puede retirarse el consentimiento:

1º Cuando quiera

2º Sin tener que dar explicaciones.

3º Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Y ha expresado libremente su conformidad para que se utilicen las fotografías que se tomen durante el estudio de la forma descrita.

Firma del Testigo

Firma del Investigador

Fecha: _____

Fecha: _____

El investigador certifica que el participante ya mencionado ha tenido tiempo suficiente para considerar esta información, ha tenido la posibilidad de formular preguntas y ha aceptado voluntariamente que se utilicen las fotografías que se hagan en el estudio de la forma descrita.

Recibirá una copia de esta hoja de información al paciente y documento de consentimiento informado.

CONSENTIMIENTO DEL REPRESENTANTE LEGAL

Título del ensayo: *“Estudio piloto del tratamiento del liquen escleroso vulvar mediante tejido adiposo asociado a plasma rico en plaquetas autólogos”*.

Yo, _____ (nombre y apellidos del representante).

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el uso adicional de las fotografías que se tomarán durante el estudio.

He recibido suficiente información acerca de las fotografías del estudio.

He hablado con: _____ (nombre del Investigador)

Comprendo que la participación es voluntaria

Comprendo que es posible retirar el consentimiento:

- 1º Cuando así lo quiera el participante
- 2º Sin tener que dar explicaciones.
- 3º Sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.

En mi presencia se ha dado a _____ (nombre del participante), toda la información pertinente adaptada a su nivel de entendimiento y está de acuerdo en participar.

Y presto mi conformidad con que se utilicen las fotografías de _____ (nombre del participante) que se hagan en el estudio de la forma descrita.

Firma del Representante

Firma del Investigador

Fecha: _____

Fecha: _____

El investigador certifica que el representante del participante ya mencionado ha tenido tiempo suficiente para considerar esta información, ha tenido la posibilidad de formular preguntas y ha aceptado voluntariamente que se utilicen las fotografías que se hagan en el estudio de la forma descrita.

Recibirá una copia de esta hoja de información al paciente y documento de consentimiento informado

