



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**"INMUNOLOGÍA VETERINARIA
APLICADA.
ASPECTOS INMUNOPATOLÓGICOS
Y CLÍNICOS DEL COMPLEJO DEL
PÉNFIGO CANINO"**

**TRABAJO DE SEMINARIO
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MÉDICO VETERINARIO
ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :
MANUEL LUIS HORTA MENDOZA**

REGISTRO DE TESIS
FALTA DE ORDEN
NO SIS CON

ASESORES:

**MVZ ERIK GONZÁLEZ BALLESTEROS
QFB JUANA ALICIA ALQUICIRA CAMACHO
MVZ FERNANDO ALBERTO MUÑOZ TENERÍA**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO



DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 51 del Reglamento de Exámenes Profesionales de la FES-Cuautitlán, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el Trabajo de Seminario

Inmunología veterinaria aplicada, "Aspectos inmunopatológicos y clínicos
del complejo del péñigo canino."

que presenta el pasante: Manuel Luis Horta Mendoza

con número de cuenta: 9754368-6 para obtener el título de

Médico Veterinario y Zootecnista

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXÁMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VISTO BUENO

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 9 de Septiembre de 2002

| MODULO | PROFESOR | FIRMA |
|------------|--|----------------------------------|
| <u>I</u> | <u>MVZ. Erik Gonzalez Ballesteros</u> | <u>Erik Gonzalez Ballesteros</u> |
| <u>II</u> | <u>MVZ. Fernando Alberto Muñoz Tenorio</u> | <u>[Firma]</u> |
| <u>III</u> | <u>QFB. Juana Alicia Alquicira Camacho</u> | <u>[Firma]</u> |

AGRADECIMIENTOS

Primero que nada agradezco a mis padres que con su constante apoyo y dedicación se esmeraron porque obtuviera una buena educación, gracias por haberme dado las armas para poder terminar una carrera universitaria.

A mis amigos les doy también gracias ya que sin ellos el estrés acumulado durante los días de escuela nunca se hubiera ido, ustedes saben quienes son, gracias por su apoyo.

A mis asesores MVZ Fernando Muñoz y QFB Alicia Alquicira, pero en especial al MVZ Erik González Ballesteros, gracias por el gran apoyo, ayuda y orientación en la redacción de este trabajo, valió la pena que fueras bastante estricto y perfeccionista y doy gracias a que fueras mi asesor, gracias por ayudarme a hacer de este trabajo algo que justificaran las tardes de trabajo en el laboratorio y las noches de desvelo en la computadora redactando este trabajo.

Un agradecimiento especial al MVZ Luis Nolasco por la contribución de las fotografías publicadas y la revisión extraoficial de este trabajo.

A la MVZ Elizabeth Arroyo que con sus enseñanzas y orientación en la práctica de la clínica de pequeñas especies me ayudó a adquirir la experiencia en esta área e influyó en mi decisión de dedicarme a la clínica de estas especies.

Por último le agradezco a esa persona que estuvo conmigo toda la carrera, tu fuiste más que una compañera, amiga, novia, tu fuiste mi mayor apoyo en los momentos de desesperación, me levantabas cuando caía, me soportabas en los momentos de frustración, y me entendías y escuchabas cuando nadie más lo hacía, en fin, gracias a ti supere grandes obstáculos y obtuve mis mayores logros por que eras la inspiración de mi vida; gracias por haber estado ahí.

ÍNDICE GENERAL

| CAPÍTULO | Página |
|---------------------------------------|---------------|
| 1. Resumen | 7 |
| 2. Introducción | 8 |
| 3. Justificación | 10 |
| 4. Epidemiología | 12 |
| 5. Inmunopatología | 15 |
| 6. Signos clínicos | 23 |
| 6.1. Pénfigo foliáceo | 23 |
| 6.2. Pénfigo vulgar | 25 |
| 6.3. Pénfigo eritematoso | 26 |
| 6.4. Pénfigo vegetante | 26 |
| 7. Diagnóstico | 27 |
| 7.1 Auxiliares diagnósticos | 29 |
| 7.1.1. Citología | 29 |
| 7.1.2. Histopatología | 30 |
| 7.1.2.1. Pénfigo foliáceo | 30 |
| 7.1.2.2. Pénfigo vulgar | 31 |
| 7.1.2.3. Pénfigo eritematoso | 32 |
| 7.1.2.4. Pénfigo vegetante | 32 |
| 7.1.3 Pruebas inmunoquímicas | 33 |
| 7.1.3.1 Inmunohistoquímica | 33 |
| 7.1.3.1.1 Inmunofluorescencia directa | 33 |
| 7.1.3.1.2 Inmunoperoxidasa directa | 35 |

| | |
|---|----|
| 7.1.3.1.3 Inmunofluorescencia indirecta | 36 |
| 7.1.3.2 Ensayos Inmunoenzimáticos | 36 |
| 7.1.3.2.1 ELISA | 36 |
| 7.1.3.2.2 ELISPOT | 37 |
| 8. Tratamiento | 37 |
| 8.1. Monoterapia | 38 |
| 8.2. Terapia combinada | 39 |
| 8.3. Terapia adicional | 46 |
| 9. Pronóstico | 46 |
| 10. Conclusiones | 47 |
| 11. Referencias | 49 |

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Prevalencia de casos en los diferentes tipos de pénfigo.

Tabla 2. Razas reportadas en casos de pénfigo.

Tabla 3. Prevalencia de casos de pénfigo por raza y edad.

Tabla 4 Características diferenciales de las enfermedades que componen el complejo del pénfigo canino.

Tabla 5. Protocolo de tratamiento con prednisona y azatioprina.

Fig. 1. Costras en cabeza

Fig. 2. Costras y úlceras en oreja

Fig. 3. Hiperqueratosis, hipertrofia vellosa, úlceras y costras en cojinete.

Fig. 4. Úlceras en axila.

Fig. 5. Pústulas en ano.

Fig 6. Células acantolíticas.

Fig. 7. Biopsia de piel.

ABREVIATURAS

APC- Antigen-presenting cell- Célula presentadora de antígeno.

CD- Cluster of differentiation

DNA- Desoxyribonucleic acid- Ácido desoxirribonucleico.

ELISA- Enzyme-linked immunosorbent assay- Ensayo inmunosorbente ligado a enzima.

Fc- Fragmento cristalizabile del anticuerpo

g- Gramo/s

h- hora/s

HLA- Human leukocyte antigens (MHC humano)

IFN- Interferón

IgG- Inmunoglobulina G

IL- Interleucina

kDa- Kilodaltones

kg- kilogramo/s

mg- Miligramo/s

MHC- Major histocompatibility complex- Complejo principal de histocompatibilidad.

mL- mililitro/s

Th- T helper- T cooperadora

TNF- Tumor Necrosis factor- Factor de necrosis tumoral.

1. RESUMEN

Las enfermedades autoinmunes se originan por la pérdida o falla en la auto-tolerancia, provocando el desarrollo de respuestas en contra de antígenos autólogos y que pueden presentarse de forma local o sistémica. El complejo del péufigo canino es un grupo de enfermedades autoinmunes caracterizadas por la producción de vesículas intraepidérmicas entre las que se encuentran el péufigo foliáceo (PF), vulgar (PV), eritematoso (PE) y vegetante (PV). En general afecta a la mayoría de las razas sin predisposición por sexo o edad.

En el péufigo se producen anticuerpos IgG dirigidos contra algunos componentes del glicocálix, principalmente contra ciertas proteínas desmosomales llamadas desmogleinas; aunque se han encontrado anticuerpos que reconocen otros antígenos de los queratinocitos. En el PF el autoantígeno es la desmogleína 1; en el PV la desmogleína 3; en el PE la desmogleína 1, la membrana basal y antígenos nucleares; y en el PV la desmogleína 3. La unión del autoanticuerpo provoca cambios a nivel membranario que culminan con la formación de plasmina la cual destruye la unión intercelular produciendo acantólisis, lesión característica de la enfermedad, en las áreas de la epidermis donde la desmogleína específica es más abundante.

Los signos clínicos varían entre las enfermedades del complejo, aunque todas se caracterizan por la formación de vesículas, pústulas cutáneas, costras, erosiones, alopecia y descamación. Para el diagnóstico definitivo se puede utilizar la histopatología e inmunoperoxidasa; sin embargo la inmunofluorescencia directa e indirecta, ELISA, ELISPOT y Western blot podrían emplearse satisfactoriamente, aunque algunas de ellas solo se han utilizado a nivel experimental.

El tratamiento se basa en fármacos inmunosupresores como corticosteroides de corta duración y la azatioprina, que comúnmente son utilizados forma combinada. Se han utilizado otros fármacos como la ciclofosfamida, sales de oro, dapsona, heparina, tetraciclina y niacinamida; la mayoría de ellos en conjunto con los corticosteroides. Recientemente se han estudiado la administración intravenosa de inmunoglobulinas IgG y la administración de mofetil micofelonato con resultados satisfactorios en humanos.

2. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades autoinmunes son padecimientos que se originan por la pérdida o falla en la auto-tolerancia mediante la activación de clonas de linfocitos autorreactivas que de forma normal son eliminadas o se encuentran anérgicas o suprimidas; provocando el desarrollo de respuestas inmunes en contra de antígenos autólogos conocidos también como autoantígenos. Los mecanismos efectores de la autoinmunidad son los mismos que participan en la respuesta inmune innata y adquirida en contra de organismos patógenos u otros antígenos extraños; así en estos procesos se observa la producción de anticuerpos dirigidos contra los autoantígenos y que son conocidos como autoanticuerpos, la presencia de linfocitos T autorreactivos cooperadores o citotóxicos, así como de los demás componentes de la inmunidad innata y adquirida, cuya acción en conjunto da como resultado la generación del daño tisular. Las enfermedades autoinmunes pueden tener una presentación generalizada o sistémica, o pueden ser de tipo local u órgano-específica.

Las características generales de la autoinmunidad, así como los mecanismos asociados con su aparición y desarrollo, se han descrito en múltiples textos de inmunología y artículos de revisión.^{1,2,3,4,5,6,7,8,9} Los fenómenos de autoinmunidad pueden asociarse generalmente con trastornos que alteran la generación de la tolerancia central o periférica, entre ellos se consideran a las anomalías en linfocitos T reguladores o supresores, expresión anormal de moléculas coestimuladoras en células presentadoras de antígeno (APC) profesionales y no profesionales, factores genéticos o enfermedades relacionadas con el genes del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) de clase II, defectos en los mecanismos de generación de anergia o supresión clonal, y fallas en la generación de tolerancia por linfocitos B. También son considerados otro tipo de factores que no tienen relación directa con los linfocitos como lo son factores genéticos no relacionados con el MHC, el contacto con antígenos previamente ocultos en órganos inmunoprivilegiados como ojo y testículo, y la aparición de "neoantígenos" como sucede en la producción de anticuerpos en contra de complejos inmunes. Las enfermedades infecciosas también pueden contribuir con

el desarrollo o exacerbación de la autoinmunidad, ya sea por mimetismo molecular con algún autoantígeno, incremento en la expresión de moléculas coestimuladoras en células presentadoras de antígeno o al inducir alteraciones en antígenos propios.

Dentro de los trastornos autoinmunes más comunes en el perro se encuentran un grupo de enfermedades conocidas en conjunto como complejo del pénfigo canino (la palabra pénfigo proviene del termino griego *pemphigus* que quiere decir vesícula); este complejo comprende enfermedades tales como el pénfigo foliáceo, pénfigo vulgar, pénfigo eritematoso y el pénfigo vegetante; las cuales se caracterizan por diversos tipos de lesiones vesiculosas cutáneas. Los primeros casos reportados de pénfigo vulgar en el perro fueron publicados en el año de 1975 por Stannard, Baker y Gribble¹⁰ y por Hurvitz y Feldman.¹¹ En 1977 se reportó el primer caso de pénfigo foliáceo por Halliwell y Goldsmith¹² y en este mismo año se diagnosticó el primer caso de pénfigo vegetante por Scott;¹³ mientras que los primeros casos de pénfigo eritematoso se reportaron en 1980 también por Scott et al;¹⁴ y desde entonces se han reportado múltiples casos de las diferentes enfermedades que forman este complejo.

Las enfermedades de este complejo se asocian con la producción de autoanticuerpos dirigidos en contra de antígenos de superficie de los queratinocitos de varios epitelios estratificados, la unión de estos anticuerpos con los antígenos epiteliales provoca la pérdida de adhesión entre los queratinocitos o acantólisis, ya sea por interferencia directa o mediante la activación del activador del plasminógeno que es la teoría mas aceptada en cuanto a la patogenia de la enfermedad;¹⁵ teniendo como resultado final la formación de vesículas intraepidérmicas.

3. JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades autoinmunes son padecimientos que en conjunto se presentan con relativa frecuencia en la clínica canina y representan un área de estudio e investigación importante en el campo de la inmunología veterinaria y de la inmunología en general; ya que varios de los padecimientos que se presentan en el perro podrían ser empleados como modelos de enfermedades que afectan al humano, por lo que es importante conocer los factores involucrados en la generación de las diferentes enfermedades autoinmunes del perro, así como en el conocimiento de sus características clínicas.

Dentro de los problemas de autoinmunidad que se conocen en el perro, el complejo del pénfigo canino tiene una incidencia relativamente alta en la clínica de pequeñas especies, por lo que es importante conocer los aspectos clínicos más relevantes de cada una de las enfermedades que componen éste complejo para poder obtener un diagnóstico preciso e implementar un tratamiento correcto; ya que en muchas ocasiones este tipo de enfermedades son mal diagnosticadas y por lo tanto el tratamiento también es inadecuado. Del mismo modo es importante conocer las bases inmunopatológicas del pénfigo canino para poder comprender las diferencias que existen entre las diversas enfermedades del complejo y poder facilitar con esto la obtención de un diagnóstico acertado, hacer un pronóstico realista y el buscar nuevas alternativas terapéuticas.

El objetivo de esta revisión fue la recopilación de la información más reciente acerca de las enfermedades del complejo de pénfigo canino con la finalidad de actualizar el conocimiento que se tiene acerca de este grupo de enfermedades, así como conocer mejor los mecanismos inmunopatológicos por los que se desarrolla, los aspectos clínicos de cada una de las enfermedades del complejo, las técnicas de diagnóstico y los tratamientos que se han utilizado en los diferentes casos de pénfigo canino a nivel clínico o experimental. Es importante hacer una amplia revisión de la literatura científica disponible acerca del tema para reunir los datos más sobresalientes de los casos y estudios publicados hasta la fecha. A pesar del desconocimiento parcial de la inmunopatología del pénfigo cada día se conoce más acerca de este grupo de

enfermedades, sobretodo en lo que respecta al humano y animales de laboratorio como el ratón. Los conocimientos obtenidos en especies diferentes al perro pueden ser de utilidad para el entendimiento del pénfigo canino, debido a las similitudes que existen con respecto a esta enfermedad en todas las especies estudiadas.

4. EPIDEMIOLOGÍA

El pénfigo es una de las enfermedades autoinmunes de expresión cutánea que más comúnmente se presenta en la práctica médica de la clínica de pequeñas especies a pesar de no ser la enfermedad cutánea con mayor frecuencia, ya que por ejemplo los casos de pénfigo foliáceo en un estudio representaron solo el 0.6% de los casos dermatológicos.¹⁶

Entre las enfermedades que componen el complejo del pénfigo canino el pénfigo foliáceo es la enfermedad mas frecuente seguido por el pénfigo vulgar y el pénfigo eritematoso, mientras que el pénfigo vegetante es forma más rara de todas (Tabla 1).^{15,17} Al pénfigo foliáceo se le ha dividido a su vez en tres presentaciones clínicas: espontánea, inducida por medicamentos y otra que presentan perros con enfermedades crónicas de la piel,^{15,18} de las cuales la forma espontánea es el más frecuente de todas observándose en perros de entre 4 y 5 años de edad.¹⁸

Tabla 1. Prevalencia de casos en los diferentes tipos de pénfigo

| Enfermedad | Casos totales |
|---------------------|----------------------|
| Pénfigo foliáceo | 67 |
| Pénfigo vulgar | 21 |
| Pénfigo eritematoso | 4 |
| Pénfigo vegetante | 2 |

En un estudio se consideró que había razas más susceptibles al pénfigo foliáceo como el collie barbudo, akita, newfoundland y schipperke;¹⁶ sin embargo se han reportado múltiples casos de pénfigo en otras razas como el pastor alemán,¹⁹ cocker spaniel,²⁰ pastor de shetland, chow chow, dachshunds, sharpei, setter ingles, cobrador dorado, husky siberiano, schnauzer miniatura, viejo pastor inglés, terrier escocés, weimaraner, west highland white terrier y doberman pinscher.^{18,21} Debido a esta situación no se ha establecido algún tipo de predisposición por raza en el pénfigo, a pesar de que en un estudio realizado en Suiza se mostró que los perros de la raza akita inu fueron diagnosticados con pénfigo foliáceo en un 9.6% de las enfermedades cutáneas (Tabla 2).²²

Tabla 2. Razas reportadas en casos de pénfigo

| Enfermedad | Razas |
|---------------------|--|
| Pénfigo Foliáceo | Cruza, Lhasa apso, Pastor alemán, Newfoundland, Schnauzer miniatura, Akita inu, Doberman pinscher, Viejo pastor inglés, Setter irlandés, Cocker spaniel, Fox terrier pelo de alambre, Poodle, Chesapeake bay retriever, cobrador de labrador, Collie barbudo, Spitz finlandés, Cobrador dorado, Airdale terrier, Schipperke, English springer spaniel, Chow-chow, Shar pei chino, Collie, Rough collie, Dachshund. |
| Pénfigo Vulgar | Cruza, Pastor alemán, Schnauzer miniatura, Poodle, Collie, Dachshund, Welsh corgi, Weimaraner, Boxer, Whippet, Border collie, Pastor australiano. |
| Pénfigo Eritematoso | Cruza, Collie, Saluki |
| Pénfigo Vegetante | Fox terrier pelo de alambre, Chow-chow |

En lo que respecta a la edad se ha observado que no hay relación aparente entre ésta con la aparición del pénfigo, y aunque en un estudio se observó una edad promedio de 4.2 años en perros a los que se les diagnosticó pénfigo foliáceo,¹⁶ en general se ha observado que la edad en los casos reportados va de los 6 meses a los 12 años,¹⁸ y que más del 65% de los casos pueden presentarse en perros menores de 5 años.¹⁵ El sexo del paciente no ha mostrado relación con la presentación del pénfigo.^{10,11,12,13,14,15,16} Al parecer la presencia del pénfigo esta relacionada con factores genéticos,¹⁵ en humanos se ha estudiado la participación de ciertos alelos del MHC de clase II en la susceptibilidad de la enfermedad,²³ aunque también se han considerado otros factores que pueden desencadenar el pénfigo como en el caso del pénfigo inducido por medicamentos,^{24,25,26} y el pénfigo paraneoplásico.²⁷

En la tabla 3 se muestra la totalidad de casos de pénfigo reportados en la literatura consultada y su prevalencia por raza y edad.

Tabla 3. Prevalencia de casos de péñfigo por raza y edad.

| Raza | Número de casos | Edad (años) | Diagnóstico |
|-----------------------------|-----------------|--------------|--|
| Cruza | 16 | 2-8 | Péñfigo foliáceo ^{12,16,54,82,93} |
| | 5 | 3-7 | Péñfigo vulgar ^{11,13} |
| | 2 | 7-8 | Péñfigo eritematoso ¹⁴ |
| Lhasa apso | 1 | 6 | Péñfigo foliáceo ⁸³ |
| Pastor alemán | 7 | 2.5-8.5 | Péñfigo foliáceo ^{16,82} |
| | 2 | 5-6 | Péñfigo vulgar ^{13,90} |
| Newfoundland | 2 | 6-7 | Péñfigo foliáceo ^{16,82} |
| Schnauzer miniatura | 1 | 4 | Péñfigo foliáceo ⁸¹ |
| | 1 | 8 | Péñfigo vulgar ⁸⁵ |
| Akita | 7 | 4-6.5 | Péñfigo foliáceo ^{16,21} |
| Doberman pinscher | 6 | 2-7 | Péñfigo foliáceo ^{16,43} |
| Viejo pastor inglés | 1 | 2.5 | Péñfigo foliáceo ¹⁶ |
| Setter irlandés | 1 | 6 | Péñfigo foliáceo ¹⁶ |
| Cocker spaniel | 3 | 3-10 | Péñfigo foliáceo ^{16,43} |
| Fox terrier pelo de alambre | 1 | 5 | Péñfigo foliáceo ¹⁶ |
| | 1 | 14 | Péñfigo vegetante ¹³ |
| Poodle (Toy) | 1 | 12 | Péñfigo foliáceo ¹⁶ |
| | 1 | 7 | Péñfigo vulgar ¹⁰ |
| Chesapeake bay retriever | 1 | 1 | Péñfigo foliáceo ¹⁶ |
| Cobrador de labrador | 1 | 2 | Péñfigo foliáceo ¹⁶ |
| | 1 | 14 | Péñfigo vulgar ⁴⁹ |
| Collie barbudo | 1 | 3 | Péñfigo foliáceo ¹⁶ |
| Spitz finlandés | 1 | 4.5 | Péñfigo foliáceo ¹⁶ |
| Cobrador dorado | 1 | 3 | Péñfigo foliáceo ¹⁶ |
| Airedale terrier | 1 | 3 | Péñfigo foliáceo ⁷⁶ |
| Schipperke | 1 | 5 | Péñfigo foliáceo ¹⁶ |
| English springer spaniel | 3 | 10 | Péñfigo foliáceo ^{21,43} |
| Chow-chow | 3 | 8 | Péñfigo foliáceo ^{21,107} |
| | 1 | 7 | Péñfigo vegetante ⁹¹ |
| Shar Pei chino | 2 | No reportada | Péñfigo foliáceo ²¹ |
| Collie | 5 | 0.4-10 | Péñfigo foliáceo ^{21,43,106} |
| | 2 | 2-4.5 | Péñfigo vulgar ^{11,13} |
| | 1 | 3 | Péñfigo eritematoso ¹⁴ |
| Rough collie | 1 | 6 | Péñfigo foliáceo ⁴³ |
| Dachshund | 1 | 7 | Péñfigo foliáceo ⁹³ |
| | 3 | 7.5-10 | Péñfigo vulgar ^{10,11} |
| Welsh corgi | 1 | 5 | Péñfigo vulgar ¹¹ |
| Weimaraner | 1 | 2 | Péñfigo vulgar ¹³ |
| Boxer | 1 | 11 | Péñfigo vulgar ¹⁰ |
| Whippet | 1 | 6 | Péñfigo vulgar ⁸⁴ |
| Border collie | 2 | 2.5-3 | Péñfigo vulgar ^{84,86} |
| Pastor australiano | 1 | 1.5 | Péñfigo vulgar ⁹⁰ |
| Saluki | 1 | 2 | Péñfigo eritematoso ¹⁴ |

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

5. INMUNOPATOLOGÍA

En el pénfigo el organismo monta una respuesta inmune en contra de componentes del cemento intercelular o glicocálix de los epitelios estratificados, específicamente en contra de proteínas desmosomales transmembranarias de la familia de las caderinas llamadas desmogleinas, las cuales están presentes en la superficie de los queratinocitos y son uno de los principales componentes del glicocálix.²⁸ Las proteínas desmosomales como la envoplaquina, placoglobina, desmoplaquina, periplaquina y un componente transmembranario que incluye varios tipos de desmogleínas y desmocolininas, son importantes para la formación de las uniones intercelulares especializadas de la epidermis, y además se encuentran formando una placa en la que por su cara intracitoplasmática se insertan los filamentos de queratina.^{29,30,31}

Uno de los componentes del sistema inmune relevante en la patogenia de las enfermedades del complejo del pénfigo canino son las moléculas del MHC de clase II las cuales se cree podrían ser importantes en el inicio de la respuesta autoinmune, así como en el determinar la predisposición de un individuo a padecer la enfermedad; y aunque en el perro no se han realizado suficientes estudios al respecto es posible suponer su participación en este grupo de enfermedades. Se ha estudiado la expresión de moléculas del MHC en la piel de perros con pénfigo foliáceo canino, observándose que las moléculas de clase II en este caso no fueron expresadas por las células dendríticas de la piel o de Langerhans; aunque sí por queratinocitos epidérmicos y foliculares,³² lo que permite sugerir su posible participación en una presentación del autoantígeno a los linfocitos T autorreactivos tolerantes; además debido a que los queratinocitos pueden expresar en su membrana la molécula B7-3 que al igual que B7-1 y B7-2, es ligando de la molécula CD28 en los linfocitos T; con lo que podría aportar la segunda señal para la activación de las células autorreactivas y provocar con esto la pérdida de la tolerancia periférica o para mantener una respuesta autoinmune previamente iniciada, aunque esto no ha sido demostrado.^{33,34,35,36,37} Del mismo modo en pacientes humanos con pénfigo vulgar se demostró la existencia de

alelos del MHC de clase II que predisponen a esta enfermedad y que participan en la presentación del autoantígeno.^{23,38,39,40}

En cualquier enfermedad autoinmune existen clones de células autorreactivas de linfocitos T cooperadores, linfocitos T citotóxicos o de linfocitos B; y es de suponer que en el caso de las enfermedades mediadas por anticuerpos generalmente se considera debe existir cooperación entre linfocitos T cooperadores y linfocitos B autorreactivos. Se ha demostrado la existencia de linfocitos T autorreactivos en algunas presentaciones del pénfigo en humanos.^{38,39,40} En el pénfigo vulgar los linfocitos T autorreactivos reconocen específicamente a la desmogleína 3, mientras que en el pénfigo foliáceo son específicos para la desmogleína 1. Estas clones autorreactivas presentaban prácticamente en su totalidad un fenotipo de linfocitos T CD4⁺ de memoria y al ser estimuladas *in vitro* secretaron citocinas de tipo Th2, principalmente IL-4 e IL-6. Este perfil de secreción de citocinas se ha observado en otros estudios con linfocitos T autorreactivos en pacientes con pénfigo, apoyando la idea de su participación en la producción de anticuerpos al estimular la activación de los linfocitos B autorreactivos. En uno de estos estudios se analizó la frecuencia de linfocitos T autorreactivos de un paciente humano con pénfigo vulgar y se encontraron linfocitos Th1 y Th2 en proporciones similares; sin embargo al compararlos con los resultados obtenidos de células autorreactivas de individuos sanos se observó que en el enfermo había una mayor frecuencia de células Th2; aunque en este reporte solo se analizó a un paciente con pénfigo los resultados coinciden en cierto modo con los resultados reportados en otros casos.⁴¹ La presentación de los antígenos a linfocitos T autorreactivos y la cooperación de estos con linfocitos B también autorreactivos parece ser importante para la producción y cambio de isotipo de los anticuerpos en esta enfermedad autoinmune, ya que la respuesta de tipo Th2 que prevalece favorece la proliferación de linfocitos B activos y de memoria, y con esto la producción de anticuerpos; además de que la pérdida de la tolerancia de un linfocito B generalmente solo puede presentarse con la participación de un linfocito T autorreactivo activado que colabore para la producción de anticuerpos. Este hecho

fue demostrado en un estudio con pacientes humanos con pénfigo vulgar, donde se inhibió la producción de anticuerpos al no permitir la participación de linfocitos CD4⁺ o de algunos alelos HLA-DR y HLA-DQ del MHC, impidiendo con esto la cooperación entre linfocitos T y B.⁴²

Los anticuerpos que generalmente se producen en el pénfigo corresponden al isotipo IgG y en el caso del perro se ha observado que los subisotipos que se presentan en el pénfigo foliáceo son IgG₂ e IgG₄; aunque existen dudas de que solo estos dos subisotipos estén involucrados, ya que en un estudio de 7 casos solo en 3 de ellos se encontraron estos subisotipos, por lo que los autores sugirieron que la IgG₁ puede tener participación en algunos casos; sin embargo esto no se pudo determinar en este estudio, ya que el anticuerpo monoclonal anti-IgG₁ empleado no funcionaba en tejidos preservados en formalina como los que se emplearon en este estudio.⁴³

Anteriormente se creía que los autoanticuerpos generados estaban dirigidos exclusivamente contra un solo componente del glicocáliz celular como las desmogleínas, como aparentemente fue comprobado al observarse que al administrar una proteína recombinante quimérica que contenía desmogleína 3 y porciones de IgG (rDsg3-Ig-His) se eliminaban los autoanticuerpos que desatan el pénfigo vulgar en ratones neonatos.⁴⁴ Sin embargo, estudios más recientes en humanos y ratones revelaron que la respuesta autoinmune no está dirigida exclusivamente contra un componente en especial, sino que va dirigida en contra de varios componentes del glicocáliz; al observarse que en ratones deficientes de desmogleína 3 a los cuales se les indujo el pénfigo vulgar y se encontraron autoanticuerpos en contra de receptores de acetilcolina de los queratinocitos,^{45,46} penfaxina,⁴⁷ otras proteínas del glicocáliz con pesos moleculares de 38, 43, 115 y 190 kDa, así como contra un polipéptido de 130 kDa que no es desmogleína 3.⁴⁶ Es importante el hecho de que existan anticuerpos en contra de receptores colinérgicos, ya que estos receptores juegan un papel importante en la fisiología del queratinocito al participar en la regulación de la adhesión y motilidad.⁴⁵ También se han encontrado autoanticuerpos que reconocen a la envoplaquina, periplaquina y desmogleína 1 en pacientes con pénfigo vulgar;⁴⁹ y

autoanticuerpos que reaccionan contra componentes de la placa de las proteínas desmosomales presentes en pacientes con pénfigo paraneoplásico.^{27,50}

La unión de los anticuerpos a las diferentes proteínas que componen el glicocáliz puede ser observada en los diferentes estratos de la epidermis, pero la acantólisis, que es la lesión característica de la enfermedad, esta restringida a las zonas donde la desmogleína específica es más abundante;⁵¹ ya que las desmogleínas son los componentes del glicocáliz que juegan un papel más trascendental en la enfermedad. Esta situación se observó en ratones carentes de desmogleína 3 en los cuales se observaron lesiones parecidas a las del pénfigo vulgar a los pocos días de nacidos;⁵² por lo que la distribución de las lesiones en las diferentes zonas del cuerpo del paciente en los diferentes tipos de pénfigo aparentemente es determinada por la localización de los diferentes tipos de desmogleína en el cuerpo.

De acuerdo con lo previamente mencionado, en cada una de las presentaciones de pénfigo canino se crean autoanticuerpos en contra de diferentes componentes del cemento intercelular; lo que determina las diferencias que existen en la presentación clínica y severidad de cada tipo de pénfigo. En el caso del pénfigo foliáceo el blanco de los anticuerpos es una proteína con peso molecular de 160 kDa que corresponde a la desmogleína 1,⁵³ la cual se encuentra en mayor cantidad en la zona alta o superficial de la epidermis; es decir, en la zona subcorneal.⁵⁴ En el pénfigo vulgar es la desmogleína 3,⁵⁵ que tiene un peso molecular de 130 kDa,⁵³ y que se encuentra en mayor concentración en la parte baja de la epidermis específicamente en el área suprabasilar de la epidermis.^{56,57} En el caso del pénfigo eritematoso los anticuerpos van dirigidos en contra de la desmogleína 1 y la membrana basal,¹⁴ así como también en contra de antígenos que se encuentran en el núcleo celular como los antígenos nucleares extraíbles y el antígeno nuclear Ro.⁵⁸ En el caso de pénfigo vegetante canino se desconoce el antígeno contra el que van dirigidos los autoanticuerpos, pero al ser considerado como una forma benigna del pénfigo vulgar puede ser que la desmogleína 3 esté involucrada en esta enfermedad siendo el blanco de la respuesta inmune; situación que se presenta en el caso de los humanos.⁵⁹

El mecanismo por el cual los anticuerpos provocan la acantólisis todavía no es esclarecido totalmente. Algunos autores consideran que la unión antígeno-anticuerpo provoca la neutralización del antígeno provocando la pérdida de cohesión entre las células;^{51,60} sin embargo existe también la posibilidad de que el anticuerpo actúe como mediador de la activación de la plasmina, que al ser una proteasa su actividad puede dar como resultado la lisis de la adhesión intercelular.⁶¹ La activación del plasminógeno y su posterior conversión a plasmina se da por el llamado sistema activador del plasminógeno, el cual está compuesto por la uroquinasa activadora del plasminógeno, el activador del plasminógeno tisular y dos tipos de inhibidores del activador del plasminógeno.⁶²

Ciertos estudios revelan que la unión del anticuerpo provoca un aumento en la secreción de uroquinasa, al observar que al añadir anticuerpos de pacientes con pémfigo a cultivos celulares de queratinocitos se estimuló la síntesis de uroquinasa activadora de plasminógeno y la expresión de su receptor en la superficie de los queratinocitos, lo que se correlacionó directamente con la acantólisis; además la adición de inhibidores de la uroquinasa y anticuerpos anti-uroquinasa bloquearon la acantólisis en los cultivos celulares.^{61,63} El aumento en la actividad de la uroquinasa activadora del plasminógeno así como el aumento en la expresión de su receptor en la superficie de los queratinocitos da lugar a la activación de la plasmina en la superficie celular cerca de la unión antígeno-anticuerpo provocando la lisis de la unión intercelular o acantólisis; además se sugiere que la expresión de los componentes activadores del plasminógeno dependen del grado de diferenciación de los queratinocitos, lo que se ve reflejado en los diferentes grados de actividad proteolítica en los diferentes niveles de queratinización.⁶³ Anteriormente se pensaba que el aumento en la secreción de uroquinasa podría ser secundario a la destrucción celular, pero actualmente se piensa que depende de la síntesis de proteínas.⁶¹

El mecanismo por el que la unión del anticuerpo incrementa la secreción de uroquinasa podría ser que los antígenos del pémfigo actúen como receptores capaces de inducir la secreción de uroquinasa.⁶¹ Se han llevado a cabo estudios para determinar los componentes que participan en la transducción de señales

intracelulares que llevan a la secreción de la uroquinasa y finalmente al desarrollo de las lesiones, específicamente en el caso del pénfigo vulgar. Se ha encontrado que la unión de la IgG con la desmogleína 3 produce un incremento en los iones de calcio y el inositol 1,4,5-trifosfato, sugiriendo que los iones de calcio intracelulares juegan un papel importante en la señalización de la unión entre el autoanticuerpo y el autoantígeno, dando como resultado la liberación de uroquinasa y conduciendo a la acantólisis de los queratinocitos.⁶⁴ El aumento de la concentración de calcio intracelular está controlado por la participación de la fosfolipasa C, mediante la hidrólisis de fosfatidil-inositol bifosfato para producir los mensajeros secundarios inositol trifosfato y 1,2-diacilglicerol; el primero de los cuales produce el aumento en la concentración de calcio intracelular y el segundo actúa como un activador endógeno de proteincinasa C, la cual participa en la diferenciación y grados de queratinización de los queratinocitos; por lo que se piensa que la unión de antígeno-anticuerpo provoca una anomalía en esta vía de señalización produciendo una queratinización anormal y por lo tanto la formación de vesículas.^{65,66} Sin embargo otro estudio indicó que el aumento en la actividad de la uroquinasa fue independiente de la movilización de calcio, demostrando la existencia de mecanismos independientes del calcio que participan en la secreción de uroquinasa.⁶⁷

A pesar de que hay evidencias de que la uroquinasa puede ser directamente responsable de la acantólisis sin requerir de la activación del plasminógeno dado que la uroquinasa puede fraccionar proteínas como las moléculas de adhesión,⁶¹ aunque estudios más recientes sugieren que la uroquinasa activadora del plasminógeno no es el elemento principal en la formación de vesículas en el pénfigo, ya que al administrar IgG de pacientes con pénfigo vulgar y pénfigo foliáceo a ratones neonatos carentes de uroquinasa activadora del plasminógeno, aun se observó acantólisis y formación de vesículas.⁶⁸

Los hallazgos mencionados indican la participación conjunta de múltiples componentes de la respuesta inmune para la generación de las lesiones en el pénfigo, y que el único componente clave es la presencia de autoanticuerpos y su unión al autoantígeno en los queratinocitos. Dentro de los demás componentes del sistema inmune que participan en la patogenia del pénfigo, las citocinas juegan un papel importante participando en la generación del daño tisular y formación de las vesículas. En varios estudios se ha observado la participación de diferentes citocinas, por ejemplo en pacientes con pénfigo vulgar se ha detectado la presencia de IL-1, así como mediadores de la inflamación como los leucotrieno B4 y tromboxano B2 en el interior de las vesículas;⁶⁹ así como IL-2, IFN- γ e IL-4 en biopsias de piel.⁷⁰ Se ha demostrado la participación de la IL-1 α y del TNF- α en la generación del daño tisular y la formación de vesículas en el pénfigo vulgar, ya que las IgG de la enfermedad provocan la secreción de estas citocinas por parte de los queratinocitos y el bloqueó de estas citocinas inhibió la formación de acantólisis.⁷¹ Además en otro estudio también se consideró la participación de la IL-6 en la patogénesis de esta enfermedad.⁷² En general las citocinas y mediadores que se ha demostrado participan en la patogenia del pénfigo corresponden al grupo de mediadores proinflamatorios por lo que es posible creer que parte del daño presente en el pénfigo se deba a los efectos producidos directa o indirectamente por la inflamación tisular inducida por la presencia de los autoanticuerpos en el tejido.

Se ha sugerido que la molécula CD28 y la IL-10 participan en la modulación de la respuesta inmune en el pénfigo vulgar, ya que en ratones neonatos carentes de CD28 se observó una mayor susceptibilidad al desarrollo de la enfermedad inducida experimentalmente y una disminución en la producción de IL-10 en la piel; del mismo modo se observaron resultados similares al emplear ratones *knockout* para IL-10, efectos que fueron suprimidos tras la administración intradérmica de IL-10 recombinante, por lo que se sugiere el posible empleo terapéutico de la IL-10 para el control del pénfigo.⁷³ La relación entre el CD28 y la IL-10 se ha demostrado con ligación del CD28 mediante anticuerpos monoclonales induciendo la producción de IL-10 en ratones.⁷⁴ La regulación que

ejerce la IL-10 en el pénfigo está relacionada directamente con la capacidad de esta citocina para inhibir la producción de citocinas proinflamatorias, entre ellas el TNF- α e IL-1,^{75,76} las cuales se ha observado que son importantes en el proceso de generación de la acantólisis en el pénfigo vulgar.⁷¹ Sin embargo es importante mencionar que en algunos otros modelos experimentales de autoinmunidad se considera a la vía coestimuladora B7-CD28 como un componente importante en las fases de iniciación y efectora de la autoinmunidad,^{36,77} quedando por aclarar cual es su importancia real en el caso del pénfigo.

Debido a que esta enfermedad está mediada por anticuerpos es fácil creer que el sistema del complemento tiene un papel principal en la generación de la acantólisis como lesión primaria en este grupo de enfermedades; sin embargo los hallazgos no son aun del todo claros, ya que se ha reportado que la activación de la cascada del complemento no es necesaria para iniciar la acantólisis,⁷⁸ y por el contrario en estudios más recientes se ha demostrado que el complemento si tiene participación en la formación de la vesícula en casos de pénfigo vulgar y foliáceo.^{79,80} A pesar de que la importancia del sistema del complemento en el pénfigo no ha sido totalmente esclarecida, muy probablemente sea importante su participación en conjunto con los demás componentes involucrados en esta enfermedad.

A pesar del desconocimiento parcial de la patogénesis de las distintas enfermedades que componen al complejo del pénfigo canino, ésta resulta en la pérdida de la unión intercelular, es decir, la acantólisis en diferentes zonas de la epidermis, lo que da lugar a fisuras en la epidermis las cuales se llenan de líquido formando pústulas o vesículas que contienen los queratinocitos acantolíticos y que constituyen de alguna forma u otra las lesiones características de este complejo de enfermedades autoinmunes.

6. SIGNOS CLINICOS

Los signos clínicos varían de acuerdo con el tipo de pénfigo presente y con el mismo individuo; además de que puede variar aun más dependiendo de la presencia de otras enfermedades tales como infecciones secundarias, tumores, otras enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso discoide o sistémico²⁰ o enfermedades como la leishmaniasis.⁸¹ Los pacientes que no son tratados o que son tratados en forma inadecuada, generalmente desarrollan pioderma secundaria por microorganismos oportunistas, principalmente de los géneros *Staphylococcus*, como *S. aureus* y *S. pyogenes*; y *Streptococcus* como *S. canis* y *S. Intermedius*,^{18,85,91} por lo que los signos pueden variar aun más y dificultar el diagnóstico del pénfigo. Los signos que se exponen a continuación son en general, los que más comúnmente se observan; aunque se debe considerar que la signología puede ser variable de acuerdo a la situación de cada paciente.

6.1 Pénfigo foliáceo

Es característica la llamada lesión de mariposa, que es un área de cambios dermatológicos que comprenden costras, descamación y alopecia; extendiéndose en el plano nasal, alrededor de los ojos y sobre la zona dorsal del hocico y en las orejas.^{16,54} Al presionar ligeramente con el dedo sobre la piel se forma una vesícula que en ocasiones incluso llega al desprendimiento de las capas superficiales de la epidermis, fenómeno conocido como signo de Nikolsky.¹³

Las lesiones primarias consisten en pápulas y máculas eritematosas las cuales rápidamente se convierten en vesículas y pústulas intraepidérmicas que raramente son vistas íntegras, ya que al ser muy frágiles se rompen fácilmente, sobretudo debido al autotraumatismo que ejerce el paciente, con lo que desaparecen al romperse con mayor rapidez.^{16,18,54} Las pústulas al romperse dejan erosiones, costras y áreas alopécicas las cuales pueden o no producir prurito y dolor.¹⁶ En las áreas más severamente afectadas se puede observar eritema y exudación, así como también collaretes periféricos circundando la lesión.^{15,16,18}

En la historia clínica se encuentra que el curso de la enfermedad tiene periodos de exacerbación y de remisión, ya que las pústulas aparecen y se rompen en minutos u horas; repitiéndose el proceso en días o semanas.¹⁶ En los periodos de exacerbación de la enfermedad se encuentran con mayor facilidad pápulas y pústulas así como focos de erosión o ulceración, mientras que en los periodos de remisión se observan principalmente costras.¹⁵ Generalmente las lesiones aparecen en forma inicial en la zona dorsal del hocico, extendiéndose después a toda la cara, y posteriormente afectar otras zonas como genitales, cojinetes plantares o extenderse por todo el cuerpo; en estos últimos casos donde las lesiones están generalizadas se pueden presentar depresión, anorexia y fiebre.^{15,16} En algunos pacientes, y más frecuentemente de raza chow chow, puede presentarse como signo único hiperqueratosis de los cojinetes plantares acompañada de las siguientes alteraciones: inflamación eritematosa en los márgenes del cojinete, grietas, friabilidad, dureza e hipertrofia vellosa; que tienen como resultado dolor al caminar; además en algunos casos se observa también alopecia y descamación en los flancos.^{16,18,82,83} En algunos pacientes con pénfigo foliáceo crónico se pueden observar seborrea y alopecia.¹⁵



Fig. 1. Costras en cabeza



Fig. 2. Costras y úlceras en oreja

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Fig. 3. Hiperqueratosis, hipertrofia vellosa, úlceras y costras en cojinetes

6.2 Pénfigo vulgar

Esta es la forma de pénfigo más severa y por lo tanto la más difícil de tratar.¹⁵ El signo característico de esta enfermedad es la presencia de úlceras en las uniones muco-cutáneas como labios, ollares, párpados, prepucio, vulva y ano; pero también pueden observarse en el paladar, lengua y piel sobretodo de las regiones inguinal y axilar;^{10,11, 84,85,86} además de que pueden verse afectadas las uñas observándose una caída de las mismas.^{87, 88} Las lesiones orales son observadas en el 90% de los casos y pudiendo presentar halitosis;^{15,85} aunque también se pueden presentar casos en los que la mucosa oral no este afectada.^{19,89}

En un inicio las lesiones son vesículas que persisten por poco tiempo ya que rápidamente se rompen evolucionando a erosiones y úlceras, las cuales pueden o no causar prurito y dolor.⁸⁷ En algunos casos las lesiones comienzan en el plano nasal con erosiones y ulceraciones que provocan dolor.⁹⁰ En el pénfigo vulgar también se observa el signo de Nikolsky, con posible desprendimiento de las capas profundas de la epidermis.^{15,88} Las lesiones pueden agravarse si no se tratan desarrollando infecciones secundarias en las úlceras.^{84,85} Los pacientes con pénfigo vulgar están sistémicamente enfermos y pueden presentar fiebre y linfonodos aumentados de tamaño en algunos casos.^{15,85,87}

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Fig. 4. Úlceras en axila



Fig. 5. Pústulas en ano

6.3 Pénfigo eritematoso

El pénfigo eritematoso es considerado como una forma benigna del pénfigo foliáceo y se le conoce también como síndrome de Senear-Usher. Se le ha considerado como una combinación de pénfigo foliáceo y lupus eritematoso, o bien una variante de pénfigo foliáceo restringido solo en la cabeza; además ha sido reportado en pocas ocasiones, por lo que la literatura disponible para su descripción es limitada.^{14,15}

Las lesiones que se observan consisten en eritema, costras, alopecia, exudado y descamación en la cara, puente nasal, área periorbitaria y auricular en forma de antifaz (lesión de mariposa). Estas lesiones derivan a erosiones y excoriaciones debido al frotamiento que ejerce el paciente, ya que puede presentarse prurito, aunque se debe considerar que no siempre se observa prurito o dolor. Otros signos presentes son la despigmentación de la nariz, la cual se puede exacerbar con la exposición a la luz solar debido a la radiación ultravioleta, y el signo de Nikolsky. Los pacientes generalmente no muestran signos de enfermedad sistémica y se les observa aparentemente sanos.

6.4 Pénfigo vegetante

Esta enfermedad es la más rara del complejo del pénfigo canino, al encontrarse solo dos reportes de casos en la literatura consultada.^{13,91} Es considerada como una forma rara y benigna de pénfigo vulgar,^{15,91} y algunos autores consideran que se presenta por resistencia a la enfermedad.¹³ El término de pénfigo pustular panepidérmico ha sido propuesto para esta enfermedad.⁹² En

el humano existe una forma local llamada Hallopeau que histológicamente se parece mucho al pénfigo vegetante del perro.^{13,88}

Las pústulas formadas evolucionan a proliferaciones papilomatosas y vegetaciones verrugosas, que pueden observarse en todo el cuerpo principalmente en el abdomen, pecho, axilas, ingles, cabeza y extremidades; se observa el signo de Nikolsky; y el paciente puede mostrar o no signos de enfermedad sistémica.^{13,15,91} Se ha mencionado que algunos pacientes que previamente se hubieran diagnosticado con pénfigo vegetante ahora se diagnosticarían con una forma profunda de pénfigo foliáceo o pénfigo eritematoso.¹⁵

7. DIAGNOSTICO

El diagnóstico para las enfermedades de este complejo descansa principalmente en los datos de la historia clínica, en la cual se observa la presencia de enfermedad cutánea con periodos de remisión y exacerbación;¹⁶ los hallazgos en el examen físico generalmente consisten en costras, pústulas, lesión de mariposa en la cara, zonas alopecicas (pénfigo foliáceo y eritematoso),^{14,16} úlceras en las uniones muco-cutáneas (pénfigo vulgar)^{10,11,84} o lesiones verrugosas o papilomatosas (pénfigo vegetante),^{13,91} pioderma secundaria, signo de Nikolsky positivo, respuesta negativa hacia los tratamientos antibacterianos, antifúngicos, antiparasitarios, y un sinnfin de signos relacionados con trastornos de tipo secundario o con efectos secundarios a la terapia inadecuada.^{12,13,14,16,82,83,84,85,86,90,91,93}

Los exámenes de patología clínica en general no son de mucha ayuda, ya que los valores normales en la mayoría de las pruebas no se ven afectados, a menos que haya infecciones secundarias.¹⁸ A pesar de ello algunos autores han encontrado neutrofilia,^{16,93} anemia normocítica normocrómica no regenerativa de ligera a moderada,^{16,93} hipoalbuminemia e hiperglobulinemia,¹⁷ Cabe mencionar que no se han observado hallazgos consistentes en el urianálisis.

El diagnóstico diferencial en el caso de pénfigo vulgar incluye al penfigoide bulloso, alergias por medicamentos, candidiasis mucocutáneas y lupus eritematoso disseminado o sistémico, eritema necrolítico migratorio y vasculitis. El pénfigo foliáceo debe diferenciarse de lupus eritematoso discoide, piodermas y foliculitis bacterianas, demodicosis y dermatofitosis para la dermatitis con pústulas y costras; y en el caso de la hiperqueratosis plantar se debe diferenciar de eritema necrolítico migratorio, eritema multiforme, micosis, dermatitis por contacto y dermatofitosis. El pénfigo eritematoso por la despigmentación de la nariz debe diferenciarse del lupus eritematoso discoide y sistémico; y para el resto de las lesiones diferenciarse de micosis, reacciones a algunos medicamentos como por ejemplo eritema multiforme, pénfigo foliáceo, dermatitis por contacto, vitiligo y síndrome de Von-Koyanagi-Harada. Por último el pénfigo vegetante se debe diferenciar del pénfigo vulgar.

Para llegar al diagnóstico definitivo en la práctica clínica se utiliza el frotis directo para estudio citológico y la histopatología. Cuando estas pruebas no son concluyentes se pueden emplear otras técnicas para la detección de autoanticuerpos, entre las cuales se encuentran la inmunofluorescencia e inmunoperoxidasa directas,⁹⁴ aunque actualmente se estudian a nivel experimental aun, otros métodos como Western blot⁵³ e inmunofluorescencia indirecta,⁹⁵ así como ELISA.⁴⁹

Para resumir se debe recordar que el diagnóstico descansa en los datos de la historia clínica, los hallazgos al examen físico y los resultados obtenidos de los auxiliares diagnósticos como estudios de histopatología y pruebas de inmunohistoquímica disponibles para la detección de los autoanticuerpos. Es muy importante considerar toda la información obtenida a nivel clínico y de laboratorio para obtener el diagnóstico acertado; ya que un diagnóstico y tratamiento equivocados pueden causar el empeoramiento y ciertos casos la muerte del paciente.

7.1 Auxiliares diagnósticos

7.1.1 Citología

El frotis directo de una pústula intacta o preparación de Tzanck,^{16, 94, 93} la cual es difícil de conseguir, muestra las siguientes alteraciones: neutrófilos no degenerados, si es que no hay una infección secundaria presente,^{16, 94, 93} presencia de eosinófilos rara vez en gran número,^{16, 93} numerosos queratinocitos acantolíticos los cuales pueden formar racimos y que generalmente corresponden a células del estrato granuloso y estrato espinoso,^{16, 93} y por último ausencia de bacterias o pocas bacterias intracelulares.^{94, 93}

Sin embargo es necesario aclarar que la aparición de células acantolíticas no es indicativo de pénfigo ya que ésta ha sido reportada en otras enfermedades de la piel como foliculitis superficial²¹ y dermatofitosis.^{18, 94} Por lo tanto la citología solo es una prueba primaria para descartar enfermedades cutáneas causadas por bacterias, hongos o parásitos; y no debe ser considerada como un sustituto del examen histopatológico.

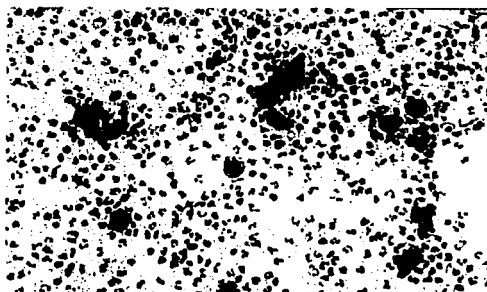


Fig. 6. Células acantolíticas

7.1.2 Histopatología

La biopsia para un examen histopatológico debe ser de preferencia a partir de vesículas de reciente formación, o de las áreas eritematosas alrededor de las lesiones y de ser posible sin signos de pioderma secundaria; así como antes de iniciar cualquier terapia inmunosupresora.^{16,18,94} Las muestras escoriadas, infectadas o cornificadas son de poco valor diagnóstico; aunque se recomienda mandar costras en formalina para obtener un diagnóstico definitivo, notificando al laboratorio de que no se tratan de artefactos y que deben ser procesadas; este criterio es recomendado debido a la dificultad de encontrar y procesar una biopsia de una vesícula intacta.¹⁸



Fig. 7. Biopsia de piel

7.1.2.1 Pénfigo foliáceo

Los hallazgos histopatológicos incluyen acantólisis intragranular a subcorneal con formación de pústulas llamadas vesicopústulas subcorneales.^{16,21,54,93} Las pústulas contienen gran cantidad de queratinocitos acantolíticos o acantocitos, neutrófilos y eosinófilos; así como células mononucleares histiocíticas.^{16,54,93} En los estratos epidérmicos que se encuentran debajo de la vesícula subcorneal se observa espongirosis, acantólisis, exocitosis linfocítica, neutrofilica y eosinofílica focal y formación de microvesículas o microabscesos principalmente en el estrato espinoso y en la vaina externa del folículo piloso.^{16,54,93,94} Se pueden observar células epidérmicas granulares disqueratóticas en la superficie de las erosiones.⁹⁴ En la pústula subcorneal los queratinocitos acantolíticos del estrato granuloso pueden aparecer individualmente o formando grupos que generalmente se encuentran flotando libremente; aunque en algunos casos pueden estar adheridos al estrato córneo adyacente.^{16,93} La

formación de cúmulos por parte de las células acantolíticas es muy común en el pénfigo foliáceo.²¹ En ocasiones se pueden encontrar queratinocitos apoptóticos en el estrato espinoso.⁵⁴ En la dermis se puede observar infiltrado superficial perivascular de linfocitos, células plasmáticas, eosinófilos y algunos neutrófilos,⁵⁴ pero la mayoría de las veces abundan los neutrófilos y eosinófilos^{16,93} En la dermis profunda, las alteraciones inflamatorias son mínimas y se observa diseminación de folículos anágenos y glándulas apocrinas activadas.⁵⁴ Algunos de estos hallazgos se pueden confundir con foliculitis superficial bacteriana, pero se han hecho comparaciones y se ha visto que en el pénfigo foliáceo hay más densidad de células acantolíticas así como una mayor formación de grupos por estas, recornificación de la base de la pústula, re-formación de la pústula, así como pústulas más grandes uniendo varios folículos pilosos.²¹

7.1.2.2 Pénfigo vulgar

En el caso de pénfigo vulgar se observa la formación de grietas suprabasales separando el estrato espinoso del estrato germinativo y por lo tanto la formación de vesículas intraepidérmicas suprabasales con células acantolíticas.^{10,11,85,87,90} Las células basales permanecen unidas a la membrana basal dando la impresión de una línea de lápidas.⁹⁴ Las vesículas completamente desarrolladas contienen gran cantidad de racimos de células acantolíticas o células individuales, estas células son redondas y con núcleo grande.^{85,94} Comúnmente se observa infiltrado eosinofílico superficial perivascular a intersticial,^{87,94} aunque generalmente se observa infiltrado de células plasmáticas y de linfocitos en la dermis superficial,^{84,85,90} así como incontinencia pigmentaria variable y melanofagia.⁹⁰

7.1.2.3 Pénfigo eritematoso

La histopatología en este caso muestra la formación de vesículas subcorneales o intragranulares con asociación de áreas focales de acantosis, exocitosis neutrofilica y formación de microvesículas; así como marcada acantólisis y acumulación de neutrófilos adyacentes a la vesícula.¹⁴ Las células basales hidrópicas diseminadas y las células epidérmicas apoptóticas son características de esta enfermedad; aunque también es común la incontinencia pigmentaria.⁹⁴ En la dermis podemos encontrar dilatación vascular de media a moderada, edema y acumulación angiocéntrica de neutrófilos, células plasmáticas y células mononucleares en la dermis superficial; además de que en algunos casos se pueden observar microabscesos con un contenido de neutrófilos y queratinocitos acantolíticos.¹⁴

7.1.2.4 Pénfigo vegetante

En este caso se puede observar un engrosamiento de la epidermis engrosada con hiperqueratosis y paraqueratosis, así como la presencia de exudado leucocitario.^{13,91} También se encuentran pústulas intraepidérmicas, acantólisis epidérmica, líneas cutáneas marcadas, espongiosis, exocitosis eosinofílica, melanosis focal y disqueratosis ocasional en la epidermis; presencia de microabscesos intraepidérmicos con localización que varía de subcorneal a suprabasal en ocasiones involucrando al folículo piloso y que contienen gran cantidad de eosinófilos y ocasionalmente neutrófilos y queratinocitos acantolíticos.^{13,91} Algunos folículos se pueden encontrar sin pelo y en su lugar llenos de tejido hiperqueratótico y la dermis papilar o superficial se observa edematosa y conteniendo capilares dilatados con separación de los paquetes de colágena dérmica; el infiltrado inflamatorio contiene células plasmáticas, linfocitos, y ocasionalmente mastocitos, aunque la mayoría la ocupan los eosinófilos.^{13,91}

La tabla 4 agrupa las diferentes lesiones macro y microscópicas más comunes de las diferentes enfermedades que componen el complejo del pénfigo canino, con el fin de clasificarlas y facilitar el obtener un diagnóstico más preciso.

Tabla 4. Características diferenciales de las enfermedades que componen el complejo del pénfigo canino

| | Distribución y lesiones | Localización microscópica de la lesión y características importantes |
|----------------------------|--|--|
| Pénfigo foliáceo | Cutánea: Facial principalmente (lesión de mariposa) posteriormente se disemina a todo el cuerpo del paciente. Costras, descamación y alopecia. | Vesícula subcorneal. Formación de cúmulos de acantocitos. |
| Pénfigo vulgar | Uniones mucocutáneas: Cavidad oral, prepucio, vulva, ano, uñas, ollares. Cutánea: Región axilar e inguinal. Ulceras y erosiones | Vesícula suprabasal. Células basales aparentando línea de lápidas. |
| Pénfigo eritematoso | Cutánea: Facial principalmente (lesión de mariposa) con despigmentación nasal y fotosensibilización frecuente. Costras, descamación, erosiones, eritema. | Vesícula subcorneal a intragranular. |
| Pénfigo vegetante | Proliferaciones papilomatosas o verrugosas en todo el cuerpo. | Vesículas intraepidérmicas. Microabscesos de subcorneal a suprabasal con gran cantidad de eosinófilos. |

*Todas las vesículas contienen queratinocitos acantolíticos en su interior.

7.1.3 Pruebas inmunoquímicas

7.1.3.1 Inmunohistoquímica

7.1.3.1.1 Inmunofluorescencia directa

La inmunofluorescencia directa sirve para detectar anticuerpos en diferentes tejidos. Generalmente las inmunoglobulinas implicadas en el pénfigo canino son del tipo IgG; aunque para esta prueba se utilizan anticuerpos anti-IgG, IgA, IgM y para la fracción C3 del complemento, ya que en otras enfermedades autoinmunes de la piel se pueden encontrar involucradas. Los autoanticuerpos son detectados por anticuerpos anti-IgG canina conjugados generalmente con isotiocianato de fluoresceína (FITC) o algún otro fluorocromo, las deposiciones inmunofluorescentes son observadas en los espacios intercelulares de la epidermis y varían en cuanto a su localización en las diferentes enfermedades que componen éste complejo. En el caso del pénfigo foliáceo tienen localización subcorneal, observándose la fluorescencia en la epidermis alta e infundíbulo folicular;⁵⁴ en el pénfigo vulgar se pueden encontrar en la parte baja de la epidermis, específicamente en la zona suprabasal, en el espacio intercelular del

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

estrato espinoso,⁵⁷ o en el epitelio de la mucosa;⁵⁶ en el pénfigo eritematoso las deposiciones se encuentran en la membrana basal y en la parte alta de la epidermis¹⁴ y por último en el pénfigo vegetante no se tienen reportes sobre los depósitos de inmunoglobulinas en la piel, ya que en los casos publicados solo se basaron en la presentación clínica, histopatología y respuesta al tratamiento para obtener el diagnóstico; aunque algunos autores consideran que debería ser similar a la del pénfigo vulgar.⁵⁶

La prueba de inmunofluorescencia directa tiene varios inconvenientes en la práctica clínica, una de las desventajas de esta técnica es que necesita que la muestra sea conservada por congelación o en un fijador especial como el de Michel, en el cual el pH debe mantenerse entre 7 y 7.2 para preservar las inmunoglobulinas.⁹⁶ Otras desventajas que presenta son que las características morfológicas casi no se preservan impidiendo que la muestra se vuelva a usar en la prueba de histopatología por lo que se deben tomar dos muestras⁵⁷ y que las muestras obtenidas a partir de nariz y cojinetes plantares pueden dar falsos positivos ya que se han observado deposiciones de IgM de forma normal en perros sanos por lo que se recomienda tomar muestras del labio.^{97,98} Se pueden dar falsos negativos si ya se ha comenzado una terapia con glucocorticoides, si el pH no es el adecuado en el fijador de Michel, o si la toma de la biopsia es incorrecta.⁹⁴ También se han observado falsos positivos en perros con linfoma epiteliotrópico, demodicosis, sarna sarcóptica y dermatofitosis, ya que la deposición de inmunoglobulinas es también resultado de lesión tisular.⁹⁸ Por último hay que considerar que para la realización de esta técnica se requiere de equipo especial para observar los resultados.

Por todos estos inconvenientes la inmunofluorescencia directa es menos eficaz para dar un diagnóstico definitivo al compararla con la prueba de inmunoperoxidasa; aunque tiene una eficacia mayor al diagnóstico por histopatología. En un estudio realizado se comparó la inmunofluorescencia directa con la histopatología y se observó que la eficacia para dar un diagnóstico definitivo en la inmunofluorescencia directa fue del 38% de los casos contra un 25% de la histopatología;¹⁷ estos resultados no coinciden con los obtenidos en otro estudio

en donde esta prueba tuvo una eficacia del 84.6%.⁹⁵ En cambio en otro estudio se comparó la eficiencia entre la inmunofluorescencia directa y la prueba de inmunoperoxidasa, observándose que esta última dio un diagnóstico definitivo en el 59% de los casos contra un 47% de la inmunofluorescencia directa,⁹⁹ pero en otro estudio se vio que las dos pruebas eran igual de eficaces.⁵⁷ De acuerdo con estos datos reportados, solo puede determinarse que la inmunofluorescencia directa es más eficaz que solo el estudio histopatológico, aunque muestra en apariencia una menor eficacia que pruebas como la de inmunoperoxidasa.

7.1.3.1.2 Inmunoperoxidasa directa

La técnica de inmunoperoxidasa se basa en el mismo principio que la inmunofluorescencia directa pero en lugar de emplear un conjugado fluorescente anti-IgG canina se utiliza un conjugado con peroxidasa. La principal ventaja que tiene el uso de esta prueba es que se pueden utilizar muestras conservadas en formalina;^{57,99} facilitando con esto el diagnóstico ya que en la práctica clínica es más fácil manejar muestras en formalina evitando todos los cuidados que se deben tener con las muestras de inmunofluorescencia directa y por lo tanto el laboratorio obtiene mejores resultados al evitar los falsos negativos o positivos que se obtienen por un mal manejo de la muestra, además de que una sola muestra es útil para histopatología e inmunoperoxidasa.⁵⁷

En esta técnica se ha utilizado el sistema avidina-biotina-peroxidasa aumentando con ello la sensibilidad de la técnica para la detección de deposiciones de autoanticuerpos en las biopsias de piel obtenidas de perros con diferentes enfermedades autoinmunes cutáneas, entre ellas el pénfigo canino.¹⁰⁰ En este estudio este método detectó autoanticuerpos en 27 de 28 pacientes diagnosticados con enfermedad autoinmune de la piel por hallazgos clínicos e histopatología, en 6 de 19 pacientes diagnosticados únicamente por los hallazgos clínicos y solo presentó un falso positivo en el experimento.

7.1.3.1.3 Inmunofluorescencia indirecta

La prueba de inmunofluorescencia indirecta es utilizada para detectar autoanticuerpos circulantes en el suero del paciente afectado por pénfigo. En humanos esta prueba es muy utilizada, donde generalmente los autoanticuerpos son del isotipo IgG.¹⁰¹ En el caso del perro esta prueba no ha demostrado ser muy eficaz ya que se ha observado una sensibilidad variable que va desde un 5% al 64.3%,^{95,102} estas variaciones pueden deberse a que rara vez el perro tiene altos títulos de autoanticuerpos circulantes,¹⁰² o a que se utilizan preparaciones tisulares de diferentes especies para la detección del autoanticuerpo, aunque también se ha utilizado mucosa bucal canina y epitelio de labio canino.^{12,16,95} En un estudio reciente se experimentó empleando preparaciones tisulares de varias especies animales para la detección de autoanticuerpos en pacientes con pénfigo foliáceo, y al hacer la comparación se encontró que la preparación de esófago bovino mostró una reacción positiva en el 64.3% de los casos, mientras que en las otras preparaciones tisulares la reacción positiva fue menor y se presentaron gran cantidad de falsos positivos.⁹⁵

7.1.3.2 Ensayos Inmunoenzimáticos

7.1.3.2.1 ELISA

Recientemente ha sido descrita una técnica de ELISA para la detección de autoanticuerpos en el suero de pacientes humanos y caninos con pénfigo. Esta prueba fue desarrollada inicialmente para humanos utilizando desmogleína 1 y 3 humanas recombinantes, detectando casos de pénfigo foliáceo y pénfigo vulgar respectivamente. Esta técnica demostró tener una alta especificidad y sensibilidad al compararla con las pruebas de inmunohistoquímica para detectar los casos de pénfigo.¹⁰³ Esta técnica ya ha sido probada en perros a nivel experimental mostrando buenos resultados para el diagnóstico definitivo de la enfermedad.^{49,90}

7.1.3.2.2 ELISPOT

Esta técnica se ha utilizado a nivel experimental para detectar células autorreactivas B y T circulantes.^{41,42} Las células B autorreactivas se han detectado en casos de pénfigo vulgar humano en los cuales esta técnica detectó células B secretoras de anticuerpos específicos y de memoria contra la desmogleína 3; las células B secretoras fueron encontradas en 3 de 11 casos que eran los pacientes con casos más severos de pénfigo vulgar, los otros casos eran pacientes en tratamiento en los que la enfermedad se encontraba en remisión; las células B de memoria se encontraron en 11 de 16 de los casos no importando la severidad o estado de remisión de los pacientes enfermos.⁴² Las células T autorreactivas específicas contra la desmogleína 3 en casos de pénfigo vulgar humano se pueden detectar y caracterizar por medio de esta técnica al estimular con desmogleína 3 linfocitos sanguíneos; sin embargo el reporte solo abarca un caso de pénfigo vulgar en el que se observaron células T con una perfil Th2.⁴¹

8. TRATAMIENTO

En general el tratamiento a seguir no está enfocado a eliminar la enfermedad, ya que los autoanticuerpos y demás componentes de la respuesta autoinmune seguirán estando presentes, sino que va enfocado a controlar la enfermedad, obteniéndose resultados satisfactorios en la mayoría de los casos, con excepción de los casos de pénfigo vulgar. La eficacia del tratamiento depende de un diagnóstico rápido y apropiado, así como de un monitoreo continuo y seguimiento estricto de la terapia implementada.¹⁸ También se debe dirigir el tratamiento contra las infecciones secundarias y posibles efectos secundarios. Es recomendable que el paciente esté libre de cualquier otra enfermedad ya que puede interferir con la eficacia del tratamiento; por ejemplo un estudio reveló que un caso de pénfigo foliáceo no cedía al tratamiento con corticosteroides debido a la presencia de una parasitosis gastrointestinal, ya que al desparasitar al perro el pénfigo se controló satisfactoriamente.¹⁰⁴

La terapia que comúnmente se emplea incluye primordialmente glucocorticoides de corta duración, y se ha observado que su combinación con otros fármacos inmunosupresores produce mejores resultados; ya que se disminuyen los efectos secundarios producidos por la administración únicamente de corticosteroides. Entre los principales fármacos utilizados en combinación se encuentran la azatioprina, aurotioglucosa, tetraciclina y niacinamida. Por lo tanto, cuando se decide el tratamiento para el pénfigo se debe tomar en cuenta lo siguiente: la terapia combinada es más recomendable; si la dosis efectiva es menor, menores serán los efectos secundarios; la persona a cargo del cuidado del paciente debe conocer los posibles efectos secundarios y por último se deben hacer monitoreos frecuentes para evitar complicaciones.¹⁸

8.1 Monoterapia

Esta basada principalmente en la administración de glucocorticoides de corta duración como la prednisona y la prednisolona. Estos actúan disminuyendo rápida y transitoriamente la cantidad de leucocitos en sangre periférica, inhiben la proliferación de células T, inducen la apoptosis de linfocitos, bloquean de la transcripción del gen de IL-2, inhiben la fagocitosis, quimiotaxis y la síntesis del activador de plasminógeno.¹⁰⁵ Se debe seguir un protocolo de inmunosupresión muy estricto para evitar los efectos secundarios que ocasiona la administración de corticosteroides por periodos prolongados de tiempo; son estos efectos secundarios los que tornan difícil el tratamiento del pénfigo, ya que cada paciente puede desarrollar diferentes trastornos y por lo tanto obliga a variar el tratamiento para cada paciente. La terapia se divide en una fase de inducción donde las dosis empleadas de estos medicamentos sin combinación con otros inmunosupresores varían entre 2 a 4.4 mg por kg de peso cada 12 horas aunque algunos autores han utilizado hasta 6.6 mg por kg; y una etapa de mantenimiento donde el objetivo es mantener al paciente en una dosis mínima de corticosteroides a días alternos, las dosis mínimas varían de 0.5-2 mg por kg cada 48 horas.^{12,14,16,82,83,84,85,86,91,93}

Los efectos secundarios más comunes son: polifagia, polidipsia, poliuria, aumento de peso, letargia y depresión severa como síntomas poco graves,¹⁶ hasta síndrome de Cushing iatrogénico,¹⁰⁶ diabetes mellitus,¹⁰⁷ pancreatitis exocrina aguda¹⁰⁸ e incluso la muerte; así como también incremento en la susceptibilidad a infecciones, hepatopatía esteroidea,¹⁰⁶ sepsis, pérdida de musculatura, debilidad,¹⁸ úlceras gastroduodenales, nefropatía, hipertensión y disturbios electrolíticos.⁹⁴ Otro trastorno es la supresión del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, al inhibirse la secreción de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) en el hipotálamo, y de la hormona estimulante de la corteza adrenal (ACTH) en la hipófisis, lo que da como consecuencia una atrofia de la corteza adrenal con disminución en la secreción de cortisol endógeno. Si se retira bruscamente el tratamiento con corticosteroides o se causa una situación de estrés intenso (Vg. traumas, cirugías o infecciones) puede desencadenar una crisis aguda de insuficiencia adrenocortical.¹⁰⁶ Cuando se usan corticosteroides a largo plazo se debe tomar en cuenta lo siguiente: usar la mínima dosis que controle la enfermedad, administrar a días alternos, usar corticosteroides de vida corta por vía oral, ya que parenteralmente pueden alterar la función adrenal hasta por un mes y se deben administrar en el pico de liberación endógena de glucocorticoides, que en el caso del perro es en la mañana.¹⁰⁶

8.2 Terapia combinada

Para evitar los efectos secundarios del empleo de glucocorticoides se recomienda usar una terapia combinada,¹⁸ es decir, administrar corticosteroides mas otro fármaco inmunosupresor como la azatioprina o el clorambucil, que son ampliamente utilizados en el tratamiento del pénfigo canino; aunque estos también producen efectos secundarios, siendo el principal la hipoplasia o aplasia de la médula ósea.¹⁰⁵ La azatioprina es un antimetabolito purínico que interfiere con la síntesis de ácido nucleico y es tóxico para los linfocitos T; que tiene efecto retardado ya que los efectos clínicos se observan después de 4 a 6 semanas de haber sido administrada, y además se ha observado que produce mutagénesis y carcinogénesis.¹⁰⁵ El clorambucil es un agente alquilante de acción lenta supresor

de linfocitos B que altera fundamentalmente los mecanismos de proliferación celular, en particular la síntesis de DNA y la división celular; puede producir úlceras en la boca y pérdida del epitelio intestinal.¹⁰⁵ Se han utilizado otros medicamentos como la ciclofosfamida, hetacilina, doxiciclina, tetraciclina y niacinamida y aurotioglucosa en combinación con los glucocorticoides.^{13,14,16,83,90,93}

La terapia combinada también se divide en una fase de inducción que tiene tiempo variable, y una fase de mantenimiento la cual se mantiene durante toda la vida del paciente. La dosis de prednisona o prednisolona para inducir la inmunosupresión varía entre los diferentes autores, pero en general se recomiendan 1-3 mg por kg cada 12 horas vía oral,^{13,14,16,83,90,93} esto es dependiendo de la reacción al tratamiento del paciente y de la presentación de efectos secundarios. En caso de signos de gastritis como efecto secundario, se pueden utilizar inhibidores de los receptores de histamina tipo 2 como la ranitidina. La azatioprina también es utilizada en esta fase a una dosis de 2-2.2 mg por kg al día o 50 mg por m² al día,¹⁶ o clorambucil a una dosis de 0.1-0.2 mg por kg al día en el caso de que el paciente no tolere la azatioprina. La etapa de inducción por lo general dura de 10-15 días pudiéndose prolongar hasta por tres semanas. Durante la etapa de inducción también se tratan las infecciones secundarias que pueda tener el paciente, esto se logra administrando antibióticos, por ejemplo se puede administrar cefalexina con una dosis de 22-30 mg por kg vía oral cada 12 horas o clindamicina a una dosis de 5.5 mg por kg vía oral cada 12 horas. Por lo general el tratamiento se da por tres semanas mínimo.

Se inicia la etapa de mantenimiento en cuanto el proceso se observe totalmente controlado. Se empieza esta etapa disminuyendo las dosis de prednisona o prednisolona cada 8 a 15 días, el objetivo es mantener al paciente con la mínima dosis requerida, en algunos pacientes basta con 0.25-0.5 mg por kg de prednisona o prednisolona cada 48 horas, en otros pacientes se requiere hasta 2 mg cada 48 h,^{14,16,82,84,90,91} para la azatioprina se disminuye la dosis a 1 mg por kg pero cada 48-72 h o 25 mg por m², algunos autores recomiendan 1.5-2.5 mg por kg cada 48 h desde el inicio del tratamiento hasta esta etapa y solo se disminuye si se presenta mielosupresión severa.⁹⁴ El procedimiento que se sigue

en la etapa de mantenimiento es administrar azatioprina los días en los que no se administran corticosteroides. La terapia antes descrita se utiliza más en pacientes con pénfigo foliáceo o vulgar, ya que los casos de pénfigo eritematoso pueden controlarse con corticosteroides de administración tópica, esto no quiere decir que todos los casos se mantengan de la misma manera ya que la mayoría requieren de corticosteroides por vía oral.¹⁴ En la siguiente tabla se muestra un protocolo de tratamiento para los casos de pénfigo foliáceo y pénfigo vulgar:¹⁸

Tabla 5. Protocolo de tratamiento utilizando prednisona y azatioprina.

| Día | Tratamiento | Otras indicaciones | Reevaluación |
|------------|--|---|--|
| 0-15 | Prednisona 2 mg/kg dos veces al día y azatioprina 2 mg/kg una vez al día. | Tratamiento de infecciones secundarias con antimicrobianos. Evaluación completa del paciente (examen físico, hematología, química sanguínea, urianálisis, etc.) | A la semana y si todo va bien se hace una reevaluación completa a los 15 días. |
| 15-30 | Prednisona 2 mg/kg una vez al día y azatioprina 2 mg/kg una vez al día. | Revisión y reevaluación completa del paciente. Eliminar la terapia antimicrobiana. | Revisión a la semana y reevaluación a los 15 días |
| 30-58 | Prednisona 3 mg/kg cada 48 h y azatioprina 2 mg/kg una vez al día. | Se puede intentar disminuir la dosis de azatioprina a 1 mg/kg. Revisión y reevaluación completa del paciente. | Revisión a los 15 días y reevaluación completa a los 28 días |
| 58-86 | Prednisona 2 mg/kg cada 48 h y azatioprina 1 mg/kg cada 48 h | Revisión y reevaluación completa del paciente. | Revisión a los 15 días y reevaluación completa a los 28 días. |
| 86-114 | Prednisona 1.5 mg/kg cada 48 h y azatioprina 1 mg/kg cada 48 h a días alternos | Un día se administra prednisona y al otro día se administra azatioprina alternándolos. Revisión y reevaluación completa del paciente. | Revisión a los 15 días y reevaluación completa a los 28 días. |
| 114-¿? | Reducción cada semana hasta llegar a 0.5 mg/kg de prednisona c/48h a días alternos | Se puede mantener al paciente con dosis mínimas. Si recae el animal regresar a la dosis anterior. Siempre estar alertas de cualquier efecto secundario. | Revisión cada 3 a 6 meses. Realizar hemograma, química sanguínea y urianálisis con cultivo siempre que se le cite al paciente. |

*La respuesta a la terapia determina si se debe avanzar a la siguiente etapa del tratamiento.

Se han intentado otros tratamientos en combinación con los corticosteroides en el tratamiento del pénfigo canino, una de ellos es la corticoterapia en pulsos, esta consiste en administrar dosis suprafarmacológicas de metilprednisolona (succinato sódico) por periodos cortos de tiempo. Este fármaco se administra vía intravenosa a razón de 11 mg/kg/día en solución de 250 mL 5% de dextrosa por

una hora por 3 días consecutivos y se recomienda la administración de cimetidina para evitar efectos secundarios como indigestión y úlceras duodenales; otros efectos secundarios que se atribuyen a esta terapia en humanos son artralgia, inflamación facial, paro cardíaco, anafilaxis y muerte súbita, pero en el perro no se han reportado ninguno de éstos; aunque se ha reportado un caso de diabetes mellitas como efecto secundario a esta terapia.¹⁰⁷ El mecanismo de acción no se conoce por completo aún por lo que sus efectos se describen como una disminución en la respuesta inflamatoria. Cuando se controla la enfermedad, se inicia una terapia con glucocorticoides vía oral con dosis media o baja combinada con otro fármaco inmunosupresor como la azatioprina. Esta terapia consiguió en algunos casos de pénfigo vulgar y foliáceo, una mejoría rápida e intensa, pero recayeron posteriormente al reducir la dosis de prednisona a una de mantenimiento a días alternos, aunque eventualmente mejoraron con terapia de prednisona, azatioprina o crisoterapia.¹⁰⁹

Otro tratamiento que se ha visto que da buenos resultados en algunos casos, principalmente en los que la monoterapia con corticosteroides produce efectos secundarios con dosis muy bajas, es la crisoterapia, que consiste en la administración de sales de oro por vía intramuscular y generalmente se utiliza junto con la terapia con glucocorticoides. Aún no se conoce del todo el mecanismo de acción de estas sales pero se ha sugerido que disminuye la síntesis de inmunoglobulinas, otros autores sugieren que actúa interrumpiendo el proceso inflamatorio e inhibiendo las enzimas lisosomales relacionadas con la formación de la vesícula; además se les han visto otras propiedades como aumento en la estabilidad del colágeno, disminución en la migración y actividad fagocítica de macrófagos y neutrófilos, desactivación del complemento, inhibición en la síntesis de prostaglandinas, y de enzimas lisosomales epidérmicas.¹⁰⁵ Se utiliza generalmente la aurotioglucosa vía intramuscular a una dosis inicial de 5 mg y a la semana 10 mg totales, posteriormente se dosifica a razón de 1 mg/kg una vez a la semana, posteriormente se administra cada 2 semanas y posteriormente una vez al mes, si no se observa mejoría después de 12 semanas de tratamiento, se puede aumentar la dosis a 1.5-2 mg/kg. Mas reciente se puede encontrar en el

mercado una preparación de oro para administración por vía oral, ésta fue administrada en perros a una dosis de 0.12-0.19 mg/kg cada doce horas como reemplazo de la terapia vía intramuscular con buenos resultados.¹⁰⁹ Los efectos secundarios incluyen nefrotoxicidad, mielosupresión, trombocitopenia, eosinofilia, anemia, trastornos cutáneos como el eritema multiforme y estomatitis, estos han sido bien documentados en humanos, en perros se han observado ulceraciones bucales (estomatitis) e infecciones recurrentes del tracto urinario; esta terapia no siempre es de primera elección y se reserva para los casos que no responden a otros tratamientos.^{14,16,83,93}

Hay otros medicamentos que han mostrado cierta efectividad en el tratamiento de otras enfermedades de la piel y que podrían ser utilizadas con cierto éxito en casos de pénfigo canino, uno de ellos es la dapsona, ésta ha sido utilizada en compañía con la terapia corticoidea principalmente en el tratamiento de algunos casos de dermatitis herpetiforme y dermatitis pustular subcorneal.¹¹⁰ Este medicamento disminuye la activación de complemento, la producción de anticuerpos y su adherencia a neutrófilos, síntesis de enzimas lisosomales y quimiotaxis de neutrófilos al bloquear la adherencia por integrina.^{105,110} Se dosifica a 12.5 mg por perro dos veces al día, si no hay mejoría se puede doblar la dosis, se disminuye la dosis paulatinamente a 25 mg tres veces al día. Los efectos secundarios reportados en humanos incluyen anemia, metahemoglobinemia, hemólisis rápida, neutropenia, trombocitopenia, hepatotoxicidad, signos gastrointestinales, neuropatías y trastornos cutáneos, en perros solo ha sido reportado hepatotoxicidad leve, vomito y anemia transitoria;¹¹⁰ se recomienda utilizar cimetidina para disminuir el grado de metahemoglobinemia ya que la cimetidina compite con la dapsona por el citocromo P450.¹⁰⁵ Se debe observar cierta mejoría a las 4 a 6 semanas después de iniciado el tratamiento.

Se ha intentado la administración de ciclosporina en conjunción con la corticoterapia, pero con poco éxito.¹¹¹ La ciclosporina es un polipéptido inmunosupresor que inhibe la interleucina 2, por lo que también suprime la presentación de antígeno y la proliferación de células T, así como también la respuesta celular temprana a estímulos antigénicos y reguladores.¹⁰⁵ La dosis de

inducción utilizada es 20 mg/kg/día, posteriormente se reduce a 10 mg/kg cada 48 horas.¹¹¹ Los efectos secundarios que pueden presentarse son signos gastrointestinales, nefrotoxicidad, hiperplasia gingival y dermatitis papilomatosa.¹⁰⁵

Se ha observado cierta efectividad en el tratamiento de casos de pénfigo foliáceo y eritematoso utilizando fármacos como la tetraciclina y niacinamida vía oral, obteniéndose resultados variables. La tetraciclina inhibe la quimiotaxis, activación de complemento, síntesis de prostaglandinas, lipasas y colagenasas; la niacinamida inhibe la degranulación de mastocitos y a la fosfodiesterasa,¹⁰⁵ la dosis utilizada es de 500 mg de tetraciclina y 500 mg de niacinamida para perros que pesan más de 10 kg, para perros que pesan menos de 10 kg se administra la mitad de cada una. Se puede utilizar sola o combinada con la terapia corticosteroidea dando la ventaja de disminuir la dosis de corticosteroides. Se ha observado letargia, anorexia y diarrea como efectos secundarios debido al uso de estas drogas.^{90,112}

Se hizo un estudio en el que se intento controlar un caso de pénfigo vulgar utilizando heparina con resultados poco satisfactorios.¹⁹ El principio por el que se ha intentado esta terapia es que la heparina inhibe las proteasas séricas y por lo tanto inhibe la proteólisis intraepidérmica responsable de la acantólisis; el principal efecto secundario es predisposición a hemorragias.¹⁰⁵

La ciclofosfamida es otro fármaco que se ha utilizado junto con la corticoterapia. Es un agente alquilante de DNA de células en proliferación, por lo que afecta a linfocitos T y B siendo mayor su efecto en estos últimos.¹⁰⁵ Se han utilizado dosis de 1.5-3 mg/kg o 25-50 mg/m² cada 48 horas,^{14,16} pero casi no se utiliza por producir potencialmente mielosupresión y cistitis hemorrágica, otros efectos secundarios son cardiotoxicidad y pancitopenia intensa.^{14,16,105}

Actualmente se han diseñado otras terapias para el tratamiento del pénfigo y que solo han sido reportadas en humanos, desconociendo su posible aplicación en el perro, aunque debido a que la enfermedad es muy similar en ambas especies, quizás en el futuro se puedan aplicar estos tratamientos en el perro. Los tratamientos más recientemente investigados consisten en la administración intravenosa de inmunoglobulinas, estas son IgG policlonales y poliespecíficas, se

dosifica a 2 g/kg por ciclo en humanos obteniéndose magníficos resultados sin efectos secundarios serios,¹¹³ esta puede ser una buena posibilidad de tratamiento para perros en los que no se logra una remisión total de la enfermedad sin efectos secundarios indeseables por los corticosteroides. Se hizo un estudio para saber el posible mecanismo de acción de esta terapia y se encontró que en los pacientes en los cuales no tienen tratamiento y en los que se ha iniciado este tratamiento tienen altos niveles de IL-1 α y β , en los pacientes que ya han estado en remisión por largo tiempo se observó que estos niveles eran considerablemente más bajos que los pacientes anteriores y que tenían un nivel alto de expresión del antagonista del receptor de IL-1(IL-1ra).¹¹⁴ Se han revisado recientemente los mecanismos que podrían participar en la regulación de la respuesta inflamatoria y autoinmune producida por este tipo de terapia.¹¹⁵ Las inmunoglobulinas administradas por vía intravenosa podrían regular la respuesta autoinmune mediante el bloqueo de los receptores para la porción Fc de la IgG (Fc γ Rs), incremento en el catabolismo de las IgG's, atenuación del daño tisular mediado por complemento, neutralización de autoanticuerpos por anticuerpos antiidiotipo, modulación de la producción de citocinas e inhibición de la función de linfocitos B.

Otro tratamiento que se ha utilizado en humanos es la administración de mofetil micofenolato, este es un éster del ácido micofenólico y que actúa inhibiendo la síntesis *de novo* de purina, impidiendo la expansión clonal de linfocitos T y B los cuales dependen de este mecanismo para la biosíntesis de purina.¹⁰⁵ Este medicamento se ha utilizado solo o en combinación con prednisona, observándose buenos resultados al utilizarlo solo o en combinación, aunque al utilizarlo solo produce menos efectos secundarios en corto tiempo en comparación con los corticosteroides.¹¹⁶ La dosis utilizada es de 500 a 1250 mg dos veces al día.¹¹⁷

8.3 Terapia adicional

Los corticosteroides de administración tópica, como la betametazona o clobetasol, son utilizados para controlar casos leves de pénfigo como lo es el pénfigo eritematoso.⁸⁸ Cabe señalar que no todos los casos se controlan usando corticosteroides tópicos, así que se pueden utilizar en conjunto con drogas inmunosupresoras y corticosteroides de corta duración vía oral.¹⁴ También en conjunto con la terapia corticoidea u alguna otra terapia elegida, se utilizan las cremas de protección solar generalmente en casos de pénfigo eritematoso en donde el proceso se puede exacerbar por la exposición a los rayos solares.¹⁴ Cualquier tratamiento que se elija, debe ser acompañado de baños con jabones queratolíticos con el fin de eliminar costras. Algunos autores también recomiendan dar antibióticos como prevención a infecciones secundarias ya que el animal esta inmunosuprimido.

9. PRONÓSTICO

Obviamente el pronóstico depende de la gravedad del proceso y tipo de pénfigo que se este presentando, así como las reacciones secundarias que se obtengan con el tratamiento. En el perro no se ha reportado una mortalidad elevada en cualquiera de los casos de pénfigo; sin embargo cuando se presenta, casi siempre esta relacionada con los efectos secundarios adversos de la terapia inmunosupresora observándose la muerte en los primeros meses de la terapia. Se ha visto que en los casos que no son tratados también hay mortalidad elevada, ya que el animal muere por debilitamiento progresivo y sepsis.

En perros se llega a controlar el pénfigo vulgar en menos del 50% de los casos y por lo tanto el pronóstico es de reservado a favorable; en la presente revisión se encontró que 5 de los casos de pénfigo vulgar se pudieron controlar satisfactoriamente, mientras que 3 casos fueron sacrificados por ineficacia del tratamiento.^{49,84,85,86,90,109} Para el pénfigo foliáceo el pronóstico generalmente es favorable si se da un buen tratamiento, llegando a ser fatal solo si no se da el tratamiento; esta enfermedad llega a ser controlada, hecho observado en un estudio con buenos resultados en el 53% de los casos;¹⁶ sin embargo se ha

reportado cierta mortalidad mínima y que principalmente se presenta por intolerancia al tratamiento.^{81,93,109} En el caso del pénfigo eritematoso y el vegetante el pronóstico también es favorable ya que se consideran como enfermedades benignas sin afectaciones sistémicas, obteniéndose remisión de la enfermedad en la mayoría de los casos.^{13,14,91} Por lo general, el pronóstico es favorable cuando el paciente ha sobrevivido con el tratamiento por más de 2 años.

10. CONCLUSIONES

- La insuficiente investigación en el área de la inmunología veterinaria y en especial de la inmunología canina, dificulta un mejor entendimiento de las enfermedades autoinmunes y en este caso de las que componen el complejo del pénfigo canino; limitando en muchas ocasiones el uso de terapias aun no convencionales como lo es el empleo de terapias inmunomoduladoras.
- A pesar de que en el humano y el ratón se conocen hasta cierto grado los mecanismos inmunopatológicos involucrados en el desarrollo del pénfigo, aun existen muchas interrogantes con respecto a la patogenia de este grupo de enfermedades y en general de todos los fenómenos de autoinmunidad en el perro.
- Es importante conocer los signos clínicos de cada una de las enfermedades que forman este complejo para poder diferenciarlas de otras enfermedades de manifestación cutánea; así como para diferenciarlas entre ellas mismas, ya que el pronóstico es variable para cada una de las presentaciones del pénfigo.
- Es necesario conocer cuales son los auxiliares diagnósticos disponibles actualmente y su utilidad para el diagnóstico del pénfigo canino y otras enfermedades autoinmunes con presentación cutánea en el perro; así como su correcta interpretación para evitar tener un diagnóstico definitivo equivocado y por lo tanto un manejo inadecuado de la enfermedad.
- También es importante conocer las técnicas diagnósticas más recientemente empleadas para el diagnóstico del pénfigo humano tanto a

nivel clínico como experimental, para que en un futuro éstas puedan ser empleadas en la medicina veterinaria aumentando la eficiencia en el diagnóstico de casos de pénfigo en el perro y otras especies. Del mismo modo el conocer la posible utilidad de las técnicas empleadas aun a nivel experimental en el perro, pero que en un futuro podrían ser empleadas a nivel clínico.

- El conocimiento de las diferentes opciones terapéuticas útiles en esta enfermedad facilita la elección del tratamiento más adecuado para cada paciente; y permite poder variarlo en los casos donde se presenten intolerancia o efectos secundarios severos con algún tratamiento instaurado. También se deben tomar en cuenta los nuevos avances en la terapia del pénfigo humano, ya que en la mayoría de los casos se evita esta intolerancia y se llega a un mejor manejo de la enfermedad; cuestión que puede favorecer su empleo en medicina veterinaria.
- Por último, se debe hacer énfasis en que es necesario un mayor estudio de la inmunología del perro para tener un mejor conocimiento de los diferentes trastornos del sistema inmune que afectan a esta especie y que en muchas ocasiones son mal diagnosticadas y tratadas en la práctica de la clínica de pequeñas especies.

12. REFERENCIAS

1. Diseases caused by immune response: Hypersensitivity and autoimmunity. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. En: *Cellular and molecular Immunology*. Philadelphia: WB Saunders, 2000: 404-423.
2. Autoimmunity. En: Goldsby RA, Kindt DJ, Osborne BA. *Kuby Immunology*. USA: WH Freeman, 2000: 497-516.
3. Davidson A, Diamond B. Autoimmune diseases. *New Engl. J Med* 2001; 345: 340-350.
4. Shi FD, Ljunggren HG, Sarvetnick N. Innate immunity and autoimmunity: from self protection to self-destruction. *Trends in Immunology* 2001; 22: 97-101.
5. Kumar V, Sercarz E. Distinct levels of regulation in organ-specific autoimmune diseases. *Life Sci* 1999; 65: 1523-1530.
6. Klonowski KD, Monestier M. Ig heavy-chain gene revision: leaping towards autoimmunity. *Trends Immunol* 2001; 22: 400-405.
7. Doyle HA, Mamula MJ. Post-translational protein modifications in antigen recognition and autoimmunity. *Trends Immunol* 2001; 22: 443-449.
8. Martin R, Ruddle NH, Reingold S, Hafler D. T helper cell differentiation in multiple sclerosis and autoimmunity. *Immunol Today* 1998; 19: 495-498.
9. Jonsson R, Brokstad KA, Lipsky PE, Zouali M. B-lymphocyte selection and autoimmunity. *Trends Immunol* 2001; 22: 653-654.
10. Stannard AA, Gribble DH, Baker BB. A mucocutaneous disease in a dog, resembling pemphigus vulgaris in man. *J Am Vet Med Assoc* 1975; 166: 575-582.
11. Hurvitz AI, Feldman E. A disease in dogs resembling human pemphigus vulgaris: case reports. *J Am Vet Med Assoc* 1975; 166: 585-590.
12. Halliwell REW, Goldschmidt MH. Pemphigus foliaceus in the canine: a case report and discussion. *J Am Anim Hosp Assoc* 1977; 13: 431-436.
13. Scott DW. Pemphigus vegetans in a dog. *Cornell Vet* 1977; 67: 374-384.
14. Scott DW, Miller Jr WH, Lewis RM, Manning TO, Smith CA. Pemphigus erythematosus in the dog and cat. *J Am Anim Hosp Assoc* 1980; 16: 815-823.
15. Marsella R. Canine pemphigus complex: pathogenesis and clinical presentation. *Compend Contin Educ Pract Vet* 2000; 22: 568-574.
16. Ihrke PJ, Stannard AA, Ardans AA, Griffin CE. Pemphigus foliaceus in dogs: a review of 37 cases. *J Am Vet Med Assoc* 1985; 186: 59-66.
17. Werner LL, Brown KA, Halliwell REW. Diagnosis of autoimmune skin disease in the dog; correlation between histopathologic, direct immunofluorescent and clinical findings. *Vet Immunol Immunopathol* 1983; 5: 47-64.
18. Werner HA. Recognizing and treating discoid lupus erythematosus and pemphigus foliaceus in dogs. *Vet Med* 1999; 94: 955-966.
19. Olivry T, Ihrke PJ, Atlee BA. Pemphigus vulgaris lacking mucosal involvement in a German Shepherd dog: possible response to heparin therapy. *Vet Dermatol* 1992; 3: 79-84.
20. Foster AP, Sturgess CP, Gould DJ, Iwasaki T, Day MJ. Pemphigus foliaceus in association with systemic lupus erythematosus, and subsequent lymphoma in a cocker spaniel. *J Small Anim Practice* 2000; 41: 266-270.
21. Kuhl KA, Shofer FS, Goldschmidt MH. Comparative histopathology of pemphigus foliaceus and superficial folliculitis in the dog. *Vet Pathol* 1994; 31: 19-27.
22. Reichler IM, Bomhard von D, Schiller I, Meisl D, Hauser B, Glaus T, Pfliegerhaer S, Arnold S. Breed-specific skin diseases in Akita Inu. *Kleintierpraxis* 1999; 44: 647-659. (Abstr)
23. Hertl M, Karr RW, Amagai M, Katz SI. Heterogeneous MHC II restriction pattern of autoreactive desmoglein 3 specific T cell responses in pemphigus vulgaris patients and normals. *J Invest Dermatol* 1998; 110: 388-392.
24. Noli C, Koeman JP, Willemsse T. A retrospective evaluation of adverse reactions to trimethoprim-sulphonamide combinations in dogs and cats. *Vet Q* 1995; 17: 123-128.
25. Affolter VK, Tschamer von C. Cutaneous drug reactions: a retrospective study of histopathological changes and their correlation with the clinical disease. *Vet Dermatol* 1993; 4: 79-86.

26. Scott DW, Smith FWK Jr, Smith CA. Erythema multiforme and pemphigus-like antibodies associated with sulfamethoxazole-trimethoprim administration in a dog with polycystic kidneys. *Canine practice* 1986; 13: 35-38.
27. Lemmens P, de Bruin A, Meulemeester J, Wyder M, Suter MM. Paraneoplastic pemphigus in a dog. *Vet dermatol* 1998; 9: 127-134.
28. Amagai M. Autoantibodies against cell adhesion molecules in pemphigus. *J dermatol* 1994; 21: 833-837.
29. Williams PL, Bannister LH, Berry MM, Collins P, Dyson M, Dussek JE, Ferguson MWJ. *Anatomia de Gray*. 38a ed. España: Harcourt Brace, 1998.
30. Kard G. Cell and molecular biology, concepts and experiments. 1st ed. USA: Jhon Wiley & Sons, Inc, 1996.
31. Bozzola JJ, Lonnie DR. *Electron microscopy, principles and techniques for biologists*. 2nd ed. USA: Jones and Bartlett Publishers, Inc, 1999.
32. Day MJ. Expression of major histocompatibility complex class II molecules by dermal inflammatory cells, epidermal Langerhans cells and keratinocytes in canine dermatological disease. *J Comp Pathol* 1996; 115: 317-326.
33. Nickoloff BJ, Turka LA. Immunological functions of non-professional antigen-presenting cells, new insights from studies of T-cell interactions with keratinocytes. *Immunol Today* 1994; 15: 464-468.
34. Bos JD, Kapsenberg ML. The skin immune system: progress in cutaneous biology. *Immunol Today* 1993; 14: 75-78.
35. Goodman RE, Nestle F, Naidu YM, Green JM, Thompson CB, Nickoloff BJ, Turka LA. Keratinocyte-derived T cell costimulation induces preferential production of IL-2 and IL-4 but not IFN- γ 1. *J Immunol* 1994; 152: 5189-5198.
36. Anderson DE, Sharpe AH, Hafler DA. The B7-CD28/CTLA-4 costimulatory pathways in autoimmune disease of the central nervous system. *Curr Opin Immunol* 1999; 11: 677-683.
37. June CH, Bluestone JA, Nadler LM, Thompson CB. The B7 and CD28 receptor families. *Immunol Today* 1994; 15: 321-331.
38. Hertl M, Amagai M, Sundaram H, Stanley J, Ishii K, Katz SI. Recognition of desmoglein 3 by autoreactive T cells in pemphigus vulgaris patients and normals. *J Invest Dermatol* 1998; 110: 62-66.
39. Lin MS, Swartz SJ, Lopez A, Ding X, Fernandez-Vina MA, Stastny P, Fairley JA, Diaz LA. Development and characterization of desmoglein-3 specific T cells from patients with pemphigus vulgaris. *J Clin Invest* 1997; 99: 31-40.
40. Lin MS, Fu CL, Aoki V, Hans-Filho G, Rivitti EA, Moraes JR, Moraes ME, Lazaro AM, Giudice GJ, Stastny P, Diaz LA. Desmoglein-1-specific T lymphocytes from patients with endemic pemphigus foliaceus (fogo selvagem). *J Clin Invest* 2000; 105: 207-213.
41. Eming R, Budinger L, Riechers R, Christensen O, Bohlen H, Kalish R, Hertl M. Frequency analysis of autoreactive T-helper 1 and 2 cells in bullous pemphigoid and pemphigus vulgaris by enzyme-linked immunospot assay. *Br J Dermatol* 2000; 143: 1279-1282.
42. Nishifuji K, Amagai M, Kuwana M, Iwasaki T, Nishikawa T. Detection of antigen-specific B cells in patients with pemphigus vulgaris by enzyme-linked immunospot assay: requirement of T cell collaboration for autoantibody production. *J Invest Dermatol* 2000; 114: 88-94.
43. Day MJ, Mazza G. Tissue immunoglobulin G subclasses observed in immune-mediated dermatopathy, deep pyoderma and hypersensitivity dermatitis in dogs. *Res Vet Sci* 1995; 58: 82-89.
44. Memar OM, Rajaraman S, Thotakura R, Tying SK, Fan JL, Seetharamaiah GS, Lopez A, Jordon RE, Prabhakar BS. Recombinant desmoglein 3 has the necessary epitopes to adsorb and induce blister-causing antibodies. *J Invest Dermatol* 1996; 106: 261-268.
45. Vu TN, Lee TX, Ndoye A, Shultz LD, Pittelkow MR, Dahl MV, Lynch PJ, Grando SA. The pathophysiological of nondesmoglein targets of pemphigus autoimmunity. Development of antibodies against keratinocyte cholinergic receptors in patients with pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus. *Arch Dermatol* 1998; 134: 971-980.
46. Nguyen VT, Ndoye A, Grando SA. Novel human alpha9 acetylcholine receptor regulating keratinocyte adhesion is targeted by Pemphigus vulgaris autoimmunity. *Am J Pathol* 2000; 157: 1377-1391

47. Nguyen VT, Ndoye A, Grando SA. Pemphigus vulgaris antibody identifies pemphaxin. A novel keratinocyte annexin-like molecule binding acetylcholine. *J Biol Chem* 2000; 275: 29466-29476.
48. Nguyen VT, Ndoye A, Shultz LD, Pittelkow MR, Grando SA. Antibodies against keratinocytes other than desmoglein 1 and 3 can induce pemphigus vulgaris-like lesions. *J Clin Invest* 2000; 106: 1467-1479
49. Olivry T, Alhaidari Z, Ghohestani RF. Anti-plakin and desmoglein autoantibodies in a dog with pemphigus vulgaris. *Vet Pathol* 2000; 37: 496-499.
50. De Bruin A, Muller E, Wyder M, Anhalt GJ, Lemmens P, Suter MM. Periplakin and envoplakin are target antigens in canine and human paraneoplastic pemphigus. *J Am Acad Dermatol* 1999; 40: 682-685.
51. Burge SM, Wilson CL, Dean D, Wojnarowska F. An immunohistological study of desmosomal components in pemphigus. *Br J Dermatol* 1993; 128: 363-370
52. Koch PJ, Mahoney MG, Ishikawa H, Pulkkinen L, Uitto J, Shultz L, Murphy GF, Whitaker-Menezes D, Stanley JR. Targeted disruption of the pemphigus vulgaris antigen (desmoglein 3) gene in mice causes loss of keratinocyte cell adhesion with a phenotype similar to pemphigus vulgaris. *J Cell Biol* 1997; 137: 1091-1102.
53. Iwasaki T, Shimizu M, Obata H, Isaji M, Yanai T, Kitagawa H, Sasaki Y. Detection of canine pemphigus foliaceus autoantigen by immunoblotting. *Vet Immunol Immunopathol* 1997; 59: 1-10.
54. Shinya K, Nomura K, Wada S, Morioka H, Uremura T. Pemphigus foliaceus with typical histological and immunohistological findings in a dog. *J Vet Med Sci* 1996; 58: 815-817.
55. Vilela MJ, Hashimoto T, Nishikawa T, North AJ, Garrod D. A simple epithelial cell line (MDCK) shows heterogeneity of desmoglein isoforms, one resembling pemphigus vulgaris antigen. *J Cell Sci* 1995; 108: 1743-1750.
56. Bennett D, Lauder IM, Kirkham D, McQueen A. Bullous autoimmune skin disease in the dog: (2) Immunopathological assessment. *Vet Rec* 1980; 106: 523-525.
57. Suter MM, Palmer DG, Zindel S, Schenk H. Pemphigus in the dog: Comparison of immunofluorescence and immunoperoxidase method to demonstrate intercellular immunoglobulins in the epidermis. *Am J Vet Res* 1984; 45: 367-369.
58. White SD, Rosychuk RAW, Schur PH. Investigation of antibodies to extractable nuclear antigens in dogs. *Am J Vet Res* 1992; 53: 1019-1021.
59. Ohata Y, Hashimoto T, Nishikawa T. Comparative study of autoantigens for various bullous skin diseases by immunoblotting using different dermo-epidermal separation techniques. *Clin Exp Derm* 1995; 20: 454-458. (Abstr)
60. Schiltz JR, Michel B. Production of epidermal acantholysis in normal human skin in vitro by the IgG fraction from pemphigus sera. *J Invest Dermatol* 1976; 67: 254-260
61. Wilkinson JE, Smith CA, Suter MM, Falchek W, Lewis RM. Role of plasminogen activator in pemphigus vulgaris. *Am J Pathol* 1989; 134: 561-569
62. Schaefer BM, Jaeger CJ, Kramer MD. Plasminogen activator system in pemphigus vulgaris. *Br J Dermatol* 1996; 135: 726-732.
63. Sheishima M, Satoh S, Nojiri M, Osada K, Kitajima Y. Pemphigus IgG induces expression of urokinase plasminogen activator receptor on the cell surface of cultured keratinocytes. *J Invest Dermatol* 1997; 109: 650-655.
64. Sheishima M, Esaki C, Osada K, Mori S, Hashimoto T, Kitajima Y. Pemphigus IgG, but not bullous pemphigoid IgG, causes a transient increase in intracellular calcium and inositol 1,4,5-triphosphate in DJM-1 cells, a squamous cell carcinoma line. *J Invest Dermatol* 1995; 104: 33-37
65. Esaki C, Sheishima M, Yamada T, Osada K, Kitajima Y. Pharmacologic evidence for involvement of phospholipase C in pemphigus IgG induced inositol 1,4,5-triphosphate generation, intracellular calcium increase, and plasminogen activator secretion in DJM-1 cells, a squamous cell carcinoma line. *J Invest Dermatol* 1995; 105: 329-333
66. Osada K, Sheishima M, Kitajima Y. Pemphigus IgG activates and translocates protein kinase C from the cytosol to the particulate/cytoskeleton fractions in human keratinocytes. *J Invest Dermatol* 1997; 108: 482-487.
67. Cramer FM, Suter MM. Calcium-independent increases in pericellular plasminogen activator activity in pemphigus vulgaris. *Exp Dermatol* 1993; 2: 239-246. (Abstr)

68. Mahoney MG, Wang ZH, Stanley JR. Pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus antibodies are pathogenic in plasminogen activator knockout mice. *J Invest Dermatol* 1999; 113: 22-25.
69. Grando SA, Glukhenky BT, Drannik GN, Epshtein EV, Kostromin AP, Korostash TA. Mediators of inflammation in blister fluids from patients with pemphigus vulgaris and bullous pemphigoid. *Arch Dermatol* 1989; 125: 925-930.
70. Rico MJ, Benning C, Weingart ES, Streilein RD, Hall RP III. Characterization of skin cytokines in bullous pemphigoid and pemphigus vulgaris. *Br J Dermatol* 1999; 140: 1079-1086.
71. Feliciani C, Toto P, Amerio P, Pour SM, Coscione G, Shivji GM, Wang B, Sauder DN. In vitro and in vivo expression of interleukin-1alpha and tumor necrosis factor-alpha mRNA in pemphigus vulgaris: interleukin-1alpha and tumor necrosis factor-alpha are involved in acantholysis. *J Invest Dermatol* 2000; 114: 71-77.
72. Lopez-Robles E, Avalos-Diaz E, Vega Memije E, Hojyo-Tomoka T, Villalobos R, Fraire S, Domínguez-Soto L, Herrera-Esparza R. TNFalpha and IL-6 are mediators in the blistering process of pemphigus. *Int J Dermatol* 2001; 40: 185-188.
73. Toto P, Feliciani C, Amerio P, Suzuki H, Wang B, Shivji GM, Woodley D, Sauder DN. Immune modulation in pemphigus vulgaris: role of CD28 and IL-10. *J Immunol* 2000; 164: 522-529.
74. Wang R, Fang Q, Zhang L, Radvany L, Sharma A, Noben-Trauth N, Mills GB, Shi Y. CD28 ligation prevents bacterial toxin-induced septic shock in mice by inducing IL-10 expression. *J Immunol* 1997; 158: 2856-2861.
75. Howard M, O'Garra A. Biological properties of interleukin 10. *Immunol Today* 1992;13:198-200.
76. Wang P, Wu P, Siegel MI, Egan RW, Billah MM. IL-10 inhibits transcription of cytokine genes in human peripheral blood mononuclear cells. *J Immunol* 1994;153:811-816.
77. Arufe A, Hollenbaugh D. Therapeutic intervention with inhibitors of co-stimulatory pathways in autoimmune disease. *Curr Opin Immunol* 2001; 13: 683-686.
78. Anhalt GJ, Till GO, Diaz LA. Defining the role of complement in experimental pemphigus vulgaris in mice. *J Immunol* 1986; 137: 2835-2840
79. Lapiere JC, Guitart J, Ettlin DA, Chen DM, Amagai M, Chan LS. Preferential activation of the complement system in the lower epidermis of patients with pemphigus vulgaris. *Br J Dermatol* 1998; 139: 851-854.
80. Hernandez C, Amagai M, Chan LS. Pemphigus foliaceus: Preferential binding of IgG1 and C3 at the upper epidermis. *Br J Dermatol* 1997; 136: 249-252.
81. Ginel PJ, Mozos E, Fernández A, Martínez A, Molleda JM. Canine Pemphigus foliaceus associated with leishmaniasis. *Vet Rec* 1993; 133: 526-527.
82. Ihrke PJ, Stannard AA, Ardans AA, Griffin CE, Kallet AJ. Pemphigus foliaceus of the footpads in three dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1985; 186: 67-69.
83. High M. An interesting case of pemphigus foliaceus in a dog. *Can Vet J* 1999; 40: 127-128.
84. Bennett D, Lauder IM, Kirkham D, McQueen A. Bullous autoimmune skin disease in the dog: (1) clinical and pathological assessment. *Vet Rec* 1980; 106: 497-503.
85. Hoskins JD, Ouverson A, Schlater L, Proctor SE. Pemphigus vulgaris in the dog: A case report. *J Am Anim Hosp Assoc* 1977; 13: 164-176.
86. Parker WM. Pemphigus vulgaris in a Border Collie. *Can Vet J* 1978; 19: 317-319.
87. Alonso Alonso A, Martínez Martínez CJ, González Montana JR, Alonso Díez A, Rejas López J. Un caso de pénfigo vulgar canino. *Anales de la Facultad de Veterinaria de León* 1992-1994; 36: 127-130.
88. Carloti D. Autoimmune mediated skin diseases. *J Small Anim Pract* 1989; 30: 223-227.
89. Scott DW, Manning TO, Smith CA, Lewis RM. Pemphigus vulgaris without mucosal or mucocutaneous involvement in two dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 1982; 18: 401-404.
90. Foster AP, Olivry T. Nasal dermatitis as a manifestation of canine pemphigus vulgaris. *Vet Rec* 2001; 148: 450-451.
91. Schultz KT, Goldschmidt M. Pemphigus vegetans in a dog: a case report. *J Am Anim Hosp Assoc* 1980; 16: 579-582.
92. Wurm S, Mattise AW, Dunstan RW. Comparative pathology of pemphigus in dogs and humans. *Clin Dermatol* 1994; 12: 515-524. (Abstr)
93. Manning TO, Scott DW, Kruth SA, Sozanski M, Lewis RM. Three cases of canine pemphigus foliaceus, and observations on chrysotherapy. *J Am Anim Hosp Assoc* 1980; 16: 189-202.

94. Marsella R. Canine pemphigus complex: Diagnosis and Therapy. *Compend Contin Educ Pract Vet* 2000; 22: 680-685
95. Iwasaki T, Shimizu M, Obata H, Ogata M, Nagata M, Yanai T, Kitagawa H, Sasaki Y. Effect of substrate on indirect immunofluorescence test for canine pemphigus foliaceus. *Vet Pathol* 1996; 33: 332-336.
96. Ihrke PJ, Stannard AA, Ardans AA, Yaskulski SG. The longevity of immunoglobulin preservation in canine skin utilizing Michel's fixative. *Vet Immunol Immunopathol* 1985; 9: 161-170.
97. Scott DW, Walton DK, Lewis RM, Smith CA. Pitfalls in immunofluorescence testing in dermatology. Pemphigus-like antibodies in the cat, and direct immunofluorescence testing of normal dog nose and lip. *Cornell Vet* 1983; 73: 275-279.
98. Scott DW, Walton DK, Manning TO, Lewis RM, Smith CA. Pitfalls in immunofluorescence testing in canine dermatology. *Cornell Vet* 1983; 73: 131-136.
99. Bradley GA, Mays MB. Immunoperoxidase staining for the detection of autoantibodies in canine autoimmune skin disease; comparison to immunofluorescence results. *Vet Immunol Immunopathol* 1990; 26: 105-113.
100. Haines DM, Cooke EM, Clark EG. Avidin-biotin-peroxidase complex immunohistochemistry to detect immunoglobulin in formalin fixed skin biopsies in canine autoimmune skin disease. *Can J Vet Res* 1987; 51: 104-109.
101. Scott DW, Lewis RM. *Pemphigus and pemphigoid in dog and man: Comparative aspects*. *J Am Acad Dermatol* 1981; 5: 148-167.
102. Scott DW, Manning TO, Smith CA, Lewis RM. Observations on the immunopathology and therapy of canine pemphigus and pemphigoid. *J Am Vet Med Assoc* 1982; 180: 48-52.
103. Ishii K, Amagal M, Hall RP, Hashimoto T, Takayanagi A, Gamou S, Shimizu N, Nishikawa T. Characterization of autoantibodies in pemphigus using antigen-specific enzyme-linked immunosorbent assays with baculovirus-expressed recombinant desmogleins. *J Immunol* 1997; 159: 2010-2017.
104. Hirono Y, Uchida K, Kariya K, Nagata M. Pemphigus foliaceus made worse by intestinal helminths in a dog. *J Vet Med (Japan)* 1996; 49: 543-545. (Abstr)
105. Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW, Goodman & Gilman's *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 9ª ed. México: McGraw-Hill Interamericana, 1996.
106. Rejas López J, Torío Alvarez R. Formación continuada: Terapia corticoidea y alternativas en dermatología de pequeños animales. La clínica veterinaria de Alonso J. Alonso Diez-José Ramiro González Montaña-Juan Rejas López. www3.unileon.es/dp/dmv/formco03.htm
107. Jeffers JG, Shanley KJ, Schick RO. Diabetes mellitus induced in a dog after administration of corticosteroids and methylprednisolone pulse therapy. *J Am Vet Med Assoc* 1991; 199: 77-80.
108. Moriello KA, Bowen D, Meyer DJ. Acute pancreatitis in two dogs given azathioprine and prednisone. *J Am Vet Med Assoc* 1987; 191 ISS 6: 695-696.
109. White SD, Stewart LJ, Bernstein M. Corticosteroid (methylprednisolone sodium succinate) pulse therapy in five dogs with autoimmune skin disease. *J Am Vet Med* 1987; 191: 1121-1124.
110. Halliwell REW, Schwartzman RM, Ihrke PJ, Goldschmidt MH, Wood MG. Dapsone for treatment of pruritic dermatitis (dermatitis herpetiformis and subcorneal pustular dermatosis) in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1977; 170: 697-703.
111. Rosenkrantz WS, Griffin CE, Barr RJ. Clinical evaluation of cyclosporine in animal models with cutaneous immune-mediated disease and epitheliotropic lymphoma. *J Am Anim Hosp Assoc* 1989; 25: 377-384.
112. White SD, Rosychuk RAW, Reinke SI, Paradis M. Use of tetracycline and niacinamide for treatment of autoimmune skin disease in 31 dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1992; 200: 1497-1500.
113. Ahmed AR. Intravenous immunoglobulin therapy in the treatment of patients with pemphigus vulgaris unresponsive to conventional immunosuppressive treatment. *J Am Acad Dermatol* 2001; 45: 679-690.
114. Bhol KC, Desai A, Kumari S, Colon JE, Ahmed AR. Pemphigus vulgaris: the role of IL-1 and IL-1 receptor antagonist in pathogenesis and effects of intravenous immunoglobulin on their production. *Clin Immunol* 2001; 100: 172-180.
115. Dijkstra-Hoem HM, van de Winkel JGJ, Kallenberg CGM. Inflammation in autoimmunity: receptors for IgG revisited. *Trends Immunol* 2001; 22: 510-516.

-
116. Grundmann-Kollmann M, Korting HC, Behrens S, Kaskel P, Leiter U, Krahn G, Kerscher M, Peter RU. Mycophenolate mofetil: a new therapeutic option in the treatment of blistering autoimmune diseases. *J Am Acad Dermatol* 1999; 40: 957-960.
117. Nousari HC, , Sragovich A, Kimyai-Asadi A, Orlinsky D, Anhalt GJ. Mycophenolate mofetil in autoimmune and inflammatory skin disorders. *J Am Acad Dermatol* 1999; 40: 265-268.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**