

11212



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

10

2^{ej.}

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO O.D.
SERVICIO DE DERMATOLOGIA

ALTERACIONES DE LA CONECTIVIDAD EN
PACIENTES CON PENFIGO

TESIS DE POSTGRADO

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

ESPECIALISTA EN DERMATOLOGIA

P R E S E N T A

DRA. LUZ MARCELA GUTIERREZ ARMENTA

SECRETARIA DE SALUD
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO
ORGANISMO DESCENTRALIZADO



DIRECCION DE ENSEÑANZA

HGM

ASESOR DE TESIS: JEFE DE SERVICIO: PROFESOR TITULAR DEL CURSO
UNIVERSITARIO DE POSTGRADO: DRA. GLADYS LEON DORANTES.

CO-ASESORES EXTERNOS: DR. LUIS PADIERNA OLIVO.
DR. FRANCISCO JAVIER SANCHEZ GARCIA.
DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGIA. ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS
BIOLOGICAS. INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL.

Organismo Descentralizado

MEXICO, D. F.

268819

1998

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

DEDICATORIAS

A mis padres María de la Luz y Edmundo: Por todas sus enseñanzas y consejos, pero sobre todo por su cariño y comprensión.

A mi hermano Mauricio: Por ser una guía en el camino y sobre todo un gran amigo.

A Pablo: Gracias por todo tu amor, apoyo, comprensión, y por ser tan especial e importante en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A mis maestros:

Dra. Gladys León Dorantes, Dr. Amado Saúl Cano, Dr. Jorge Peniche Rosado,
Dra. Patricia Mercadillo Pérez, Dr. Rafael Andrade M., Dr. Enrique Peyro Q.

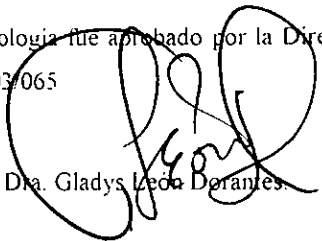
A una gran amiga: Dra. Ivonne Arellano Mendoza

A los Drs. Luis Padierna Olivos, Francisco Javier Sánchez, César Rivera B.

A mis compañeros y amigas del servicio de Dermatología.

A los Doctores: E. Carrasco, A. Peniche, O. Isunza, F. Blancas, G. Montes de Oca,
A. Bonifaz, E. Martínez, A. Sanabria.

Este trabajo de tesis de postgrado en Dermatología fue aprobado por la Dirección de Investigación con el registro DIC/97/109/03/065



Fue revisado y aceptado para impresión por la Dra. Gladys León Dorantes.

Este trabajo fue financiado parcialmente por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología con el registro 26438-M.

INDICE

I.	RESUMEN	1
II.	INTRODUCCION	2
III.	MARCO TEORICO:	
	GENERALIDADES SOBRE PENFIGO.....	3
	MECANISMO DE LA AUTOINMUNIDAD	10
	CONECTIVIDAD	17
IV.	TRABAJO DE INVESTIGACION	
	JUSTIFICACION	18
	HIPOTESIS	19
	OBJETIVO PRINCIPAL	19
	DISEÑO DEL ESTUDIO	20
	MATERIAL Y METODO	20
	VARIABLES	23
	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	24
V.	RESULTADOS	25
VI.	DISCUSION	29
VII.	CONCLUSIONES	30
VIII.	BIBLIOGRAFIA	31
IX.	ANEXOS (Figuras, Tablas y Gráficas)	37

I. RESUMEN

ANTECEDENTES: El pénfigo es una enfermedad autoinmune que afecta piel y mucosas. Presenta antígenos específicos como desmogleina 1 y 3; capaces de desarrollar la formación de autoanticuerpos contra los desmosomas de los queratinocitos epidérmicos.

OBJETIVOS: En el lupus eritematoso sistémico se sabe que existe una alteración en el patrón de conectividad el cual se define como la interacción idiotipo-antiidiotipo . Por lo que resulta de gran interés estudiar el patrón de conectividad en los pacientes con pénfigo.

MATERIAL Y METODOS: Se estudiaron 16 pacientes con diagnóstico comprobado de pénfigo de los cuales se obtuvo el patrón de conectividad y se comparó con el obtenido de los individuos sanos.

RESULTADOS: Se encontró un patrón alterado de conectividad en inmunoglobulinas séricas de pacientes con pénfigo en relación con los controles sanos.

CONCLUSIONES: El presente estudio explica parte de la respuesta inmune alterada en los pacientes con pénfigo.

II. INTRODUCCION

El Pénfigo es una enfermedad ampollosa autoinmune, la cual afecta tanto piel como mucosas, así como con alteraciones sistémicas importantes, principalmente por la gran extensión de las lesiones dermatológicas. En ésta se inducen antígenos específicos como las desmogleinas 1 y 3, capaces de desarrollar la formación de autoanticuerpos contra los desmosomas de los queratinocitos epidérmicos.

Existen diversas alteraciones en la regulación de la respuesta inmune de los pacientes con pénfigo, las cuales son capaces de provocar pérdida de la tolerancia inmunológica, con lo que se permite la formación de autoanticuerpos. Una de estas posibles alteraciones puede ser la conectividad,, la cual se refiere a la interacción idiotipo-antiidiotipo. Si bien la conectividad ha sido estudiada en otras enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico, este mecanismo de respuesta inmune no ha sido estudiado en pacientes con pénfigo.

En virtud de que el control del pénfigo está encaminado a evitar la formación de los autoanticuerpos, o bien lograr un equilibrio en la regulación de la respuesta inmune de estos pacientes, el conocer si la conectividad se encuentra involucrada en la patogénesis de esta enfermedad permitirá proponer nuevas alternativas terapéuticas como es el empleo de inmunoglobulina humana intravenosa.

III. MARCO TEORICO

GENERALIDADES SOBRE PENFIGO

Desde siglos pasados se conoce a las enfermedades ampollas, pero con frecuencia los pénfigos, el penfigoide, la dermatitis herpetiforme etc. se confundían entre sí. Sin embargo ya desde el pasado siglo, Besnier realizó la descripción clínica del pénfigo tal como se conoce ahora.

Neumann y Frühwald también colaboraron en esta descripción al hablar de lesiones ampollas de inicio en la mucosa oral y con diseminación al resto del cuerpo, las cuales se rompen con facilidad dejando grandes áreas exulceradas o denudadas. Posteriormente Çivatte mencionó las características histológicas y definió sus diferencias con el resto de las dermatosis ampollas. En el año de 1947 se introdujo el examen citológico de Tzanck. (1, 2).

En la actualidad el pénfigo se define como una enfermedad ampollas autoinmune, afectando tanto piel como mucosas, en la cual se forman autoanticuerpos contra los desmosomas de los queratinocitos epidérmicos. (3)

Actualmente se conocen nueve diferentes formas clínicas de pénfigo, llamadas:

- Vulgar
- Vegetante
- Seborreico o eritematoso (P. de Senear-Usher)
- Foliáceo
- "Fogo salvagem"
- Pénfigo inducido por medicamentos
- Pénfigo IgM
- Pénfigo IgA
- Pénfigo paraneoplásico (3)

La variedad de pénfigo vulgar es la que se observa con mayor frecuencia, correspondiendo hasta un 80% del total de los casos. (4)

En cuanto a las estadísticas en el servicio de Dermatología del Hospital General de México, los pénfigos se observan con una frecuencia de 0.11 a 0.16% de las consultas de primera vez, correspondiendo al 23.76% de las consultas de inmunodermatopatías y el 5.42% de las hospitalizaciones en dicho servicio. Específicamente dentro de las dermatosis ampollosas, el pénfigo corresponde al 79% de los casos atendidos, siendo aproximadamente el 72% vulgar, 14% eritematoso, 7% foliáceo y 3% vegetante. Recientemente también se han identificado varios casos paraneoplásicos. En esta serie de casos, predomina el sexo femenino sobre el masculino 5.6 : 1. (5)

FISIOPATOLOGIA

En el pénfigo se presenta una disminución de la adhesión intercelular que normalmente se encuentra entre los queratinocitos de la epidermis. Esto ocurre como resultado de la formación de autoanticuerpos específicos, generalmente de tipo IgG, los cuales tienen como antígeno bien una glicoproteína de 130kDa, designada como Desmogleína III, o bien la Desmogleína I o la Desmocolina I, miembros todos de la superfamilia de las cadherinas.(6) En casi todos los pacientes los títulos de estos autoanticuerpos medidos por inmunofluorescencia indirecta guardan correlación con la actividad clínica. (7-13)

Los individuos normales tienen tolerancia a éstos antígenos epidérmicos; si ésta se pierde se inicia la formación de anticuerpos y aparece el pénfigo. La unión del anticuerpo al antígeno lleva a la liberación de enzimas proteolíticas de las células epidérmicas, como por ejemplo el activador del plasminógeno. Este compuesto cliva a la plasmina del plasminógeno, lo que motiva la acantolisis ya que el activador del plasminógeno es una uroquinasa. (7-13)

Las ampollas se forman por acantolisis primaria, ya que este proceso afecta a primariamente a los queratinocitos normales. (7-13)

Por medio de la microscopía electrónica en lesiones muy recientes se observa que en todas las áreas de acantolisis incipiente, la sustancia del cemento intercelular o glucocáliz se disuelve parcialmente o por completo. Esto se observa mejor en la mucosa oral, donde las células epiteliales poseen pocos desmosomas y se mantienen unidas sobre todo por el cemento intercelular. (14)

En la siguiente tabla se muestra la participación de las desmogleinas 1 y 3, así como la desmocolina 1 en las diferentes formas de pénfigo. (15)

Pénfigo:	Desmogleina 1	Desmogleina 3	Desmocolina 1
Foliáceo/eritmatoso	+	---	---
Vulgar/Vegetante	+ (50%)	+ (Todos)	---
IgA	---	---	+
Inducido por fármacos	+	+	---
Herpetiforme	+	+	---
Paraneoplásico	+	+	---

HISTOPATOLOGIA

Microscopía de Luz:

Los cambios histopatológicos iniciales de la piel en el pénfigo consisten en edema y desaparición de los puentes intercelulares en la epidermis. La consiguiente pérdida de la cohesión intercelular o acantolisis lleva a la formación de hendiduras y luego de ampollas, suprabasales en el caso del pénfigo vulgar y el vegetante y subcórnea en el caso del foliáceo y del eritematoso. En fases iniciales la inflamación es mínima, aunque en ocasiones los eosinófilos invaden la epidermis antes del desarrollo de la acantolisis. A este fenómeno se le llama "espongiosis eosinofílica". El recientemente descrito pénfigo paraneoplásico tiene características histológicas singulares puesto que se encuentran datos similares al eritema polimorfo.(16)

Las ampollas bien establecidas del pénfigo vulgar contienen células epidérmicas aisladas y agrupadas que al separarse de las circundantes, caen en la cavidad. Estas células acantolíticas son redondeadas, con núcleos hiper cromáticos grandes y citoplasma homogéneo. La acantolisis también puede afectar al epitelio de la vaina radicular externa del pelo. En la fase de regeneración, la base de las ampollas antiguas puede constar de más de una capa celular. En la etapa de cicatrización, la proliferación ascendente de las papilas y descendente de las bandas epidérmicas puede ser considerable. (16)

El examen citológico (Tzanck) es útil para identificar rápidamente las células epidérmicas acantolíticas. Para realizarlo se obtiene un frotis de la cara interna del techo y del piso de una ampolla reciente la cual se abre, se deja secar y se tiñe con Giemsa. En diversas patologías es posible observar células acantolíticas por lo que este estudio solo es preliminar y no sustituye a la biopsia. (16)

Inmunofluorescencia directa:

Para los estudios de inmunofluorescencia directa de piel (IMFD), se utilizan cortes por congelación de piel perilesionales o sanos sin fijar, y se aplican anticuerpos contra IgG, IgA, IgM y C3 humanos marcados con fluoresceína. Cuando la prueba es positiva se observa fluorescencia en los espacios intercelulares de la epidermis.

Los anticuerpos se localizan en el punto exacto de formación de las ampollas. La IMFD de piel es un auxiliar diagnóstico muy confiable porque es positiva en casi el 100% de los casos, aún en estadios iniciales de la enfermedad cuando solo se presentan muy pocas lesiones. La positividad de esta prueba persiste durante muchos años después de la remisión clínica. (14)

Inmunofluorescencia indirecta:

La prueba de inmunofluorescencia indirecta utiliza cortes congelados de esófago de cobayo, mono o piel humana normal a los cuales se agrega suero del paciente en distintas diluciones y luego anti-IgG humana marcada con fluoresceína. En estudios positivos se comprueba fluorescencia en los espacios intercelulares de la mucosa esofágica o de la piel. Los valores de 1:20 o 1:40 indican títulos bajos, los de 1:80 o 1:160 medianos y los de 1:320 o más, altos. En muchos casos, la concentración de anticuerpos séricos es proporcional a la gravedad de la enfermedad. La prueba indirecta es menos sensible que la directa ya que en pacientes con lesiones localizadas puede ser negativa por lo que siempre se requiere de la inmunofluorescencia directa. (14)

TRATAMIENTO

Antes del advenimiento de los corticosteroides sistémicos la mortalidad en la mayoría de las enfermedades autoinmunes y en específico del pénfigo era muy elevada. Actualmente ésta ha disminuido considerablemente, pero a la vez, los riesgos de utilizar este tipo de medicamentos aparece y requiere de un seguimiento estrecho de los pacientes.

La terapéutica del pénfigo se basa en 3 fases:

1. **Fase de control de la actividad** : Aquí la terapia inicial se va a determinar por la extensión y progresión de la enfermedad. En esta fase se pretende encontrar la dosis ideal de medicamentos inmunosupresores que van a evitar la formación de nuevas lesiones ampollas. Por lo general los corticosteroides sistémicos como la prednisona o el deflazacort son de primera elección. De no lograrse con éstos el control se agregarán citotóxicos como azatioprina, ciclofosfamida, metotrexate o bien inmunomoduladores como la ciclosporina.
2. **Fase de consolidación**: En esta fase debe existir un 80% de las lesiones en etapa de curación y de acuerdo a la evolución se podrá iniciar la reducción progresiva de los esteroides. En esta fase se pueden agregar medicamentos adyuvantes como dapsona, sales de oro y otros.
3. **Fase de mantenimiento**: En esta fase el control de la enfermedad es mayor, aunque pueden presentarse recaídas, sobre todo si la disminución de los esteroides es brusca o rápida. Por lo general esta fase se lleva a cabo mediante manejo extrahospitalario. (17)

Sobre todo durante la fase de control debido a las altas dosis de corticosteroides y otros inmunosupresores, se favorece la presentación de múltiples complicaciones, dentro de las que podemos mencionar las infecciones tanto bacterianas, virales o micóticas. (18-25)

Recientemente se ha reportado la utilización de inmunoglobulina humana intravenosa en el tratamiento del pénfigo en cualquiera de sus tipos clínicos, principalmente en aquellos casos recidivantes y de difícil manejo. Este tratamiento ha permitido disminuir rápidamente la dosis de prednisona, con la consecuente disminución de efectos secundarios así como disminución de las recaídas.(26-28)

La respuesta clínica a este tratamiento con inmunoglobulina se ha documentado por estudios que demuestran como se modifican los mecanismos responsables de la inducción de autoinmunidad mediante esta terapia. (29-31)

Por otro lado, la posible utilidad de la inmunoglobulina humana intravenosa en enfermedades dermatológicas de carácter autoinmune se ha reportado en pacientes con pénfigoide buloso, dermatomiositis y epidermolisis bulosa adquirida. (32-35) Por este motivo es importante tratar de conocer mejor los mecanismos fisiopatológicos más íntimos que conducen a estas enfermedades.

MECANISMOS DE LA AUTOINMUNIDAD

Durante el siglo pasado, Ehrlich llamó *horror autotoxicus* a la capacidad del sistema inmune de prevenir la respuesta hacia lo propio, considerándose que la autoinmunidad era excepcional y siempre patológica. (36)

Actualmente se sabe que la autoinmunidad no es necesariamente patológica ni ocasional, pues todos los individuos normales, especialmente durante el curso de algunas enfermedades infecciosas cursan con fenómenos autoinmunes. Por ello los conceptos sobre autoinmunidad y enfermedad autoinmune han sufrido modificaciones. Se conocen hoy en día muchos de los mecanismos de tolerancia inmunológica que evitan que el sistema inmune inicie una respuesta contra lo propio. (36)

Durante la ontogenia las células del sistema inmune desarrollan en forma aleatoria la capacidad para responder contra los antígenos extraños y propios. La mayoría de los linfocitos T y B que reconocen antígenos propios son eliminados inmediatamente después de su generación o bien se inactivan en la circulación periférica. De esta manera se previene el desarrollo de enfermedad autoinmune en la mayoría de los casos.

Sin embargo, la tolerancia inmunológica es insuficiente para eliminar o inactivar todas las células autorreactivas ya que prácticamente todos los individuos sanos son capaces de producir autoanticuerpos *in vitro* o *in vivo* ante un estímulo adecuado. Además, en individuos sanos también hay linfocitos T autorreactivos que no fueron eliminados o inactivados. Esta autorreactividad debe considerarse normal y es perfectamente compatible con la homeostasis.(37)

La mayoría de los autoanticuerpos presentes en individuos sanos se dirigen contra antígenos comunes pero habitualmente ocultos, especialmente intracelulares. También se encuentra linfocitos T autorreactivos. La causa más probable de ello es que dichos linfocitos no fueron eliminados durante la ontogenia o inactivados en la periferia.(38)

Sin embargo, la presencia de linfocitos B y T autorreactivos ignorados es un peligro potencial, ya que si los linfocitos B productores de dichos autoanticuerpos fueran activados por su antígeno, al tiempo que los linfocitos T autorreactivos reconocieran determinantes en la misma molécula o en una proteína asociada, el resultado sería la producción abundante de autoanticuerpos de alta afinidad. Además se produciría un cambio de isotipo a IgG. Todo esto en conjunto podrá inducir una enfermedad autoinmune.(39)

Así para considerar a una enfermedad como lo es el pénfigo, autoinmune se han emitido los siguientes criterios (36):

CRITERIOS PARA LA CLASIFICACION DE UNA ENFERMEDAD COMO AUTOINMUNE

CRITERIOS MAYORES

- 1.- Presencia en los individuos afectados por un proceso patológico bien definido, de un autoanticuerpo o respuesta mediada por células contra uno o más componentes propios relacionados directamente con el tejido afectado o que sean capaces de formar complejos inmunes que induzcan daño tisular a distancia.
- 2.- Presencia de una respuesta mediada por células contra uno o más componentes propios relacionados directamente con los tejidos afectados por la enfermedad.
- 3.- Autoanticuerpos capaces de formar complejos inmunes que induzcan daño tisular a distancia.
- 4.- Ausencia de un agente infeccioso viable en las lesiones (en las fases crónicas).
- 5.- Demostración de la participación de la respuesta autoinmune en el proceso patológico por:
 - a) Reproducción de la enfermedad en un modelo experimental mediante transferencia pasiva de autoanticuerpos o linfocitos T autorreactivos (posiblemente en animales transgénicos con el supuesto autoantígeno y con el alelo del Complejo Mayor de Histocompatibilidad asociado) o,
 - b) Mejoría o desaparición de los síntomas después de la remoción selectiva de la autorrespuesta.

CRITERIOS MENORES

- 1.- Mejoría o remisión del proceso patológico mediante el uso de terapia inmunosupresora.
- 2.- Reproducción de la enfermedad en modelos animales por inmunización con los antígenos supuestamente implicados o, enfermedad espontánea de características clínico-patológicas similares en animales con respuesta autoinmune dirigida contra el mismo tejido.
- 3.- Presencia de anticuerpos o linfocitos T oligoclonales en las lesiones.
- 4.- Asociación con uno o más alelos del Complejo Mayor de Histocompatibilidad.
- 5.- Hipergammaglobulinemia en fases activas de la enfermedad.
- 6.- Otros autoanticuerpos o autorrespuesta celular no relacionados con el proceso patológico.

Se asignan dos puntos a cada criterio mayor y uno a cada criterio menor.

- Se considera enfermedad autoinmune definida a la que acumule 10 o más puntos.
- De 6 a 9 puntos se considera enfermedad autoinmune probable (o enfermedad con autoinmunidad asociada).
- Menos de 6 puntos excluyen enfermedad autoinmune.

Basados en los criterios propuestos y con los datos hasta ahora disponibles en la literatura, las siguientes enfermedades se consideran autoinmunes:

- Lupus Eritematoso Sistémico
- Síndrome de Sjögren primario
- Enfermedad de Graves
- Miastenia gravis
- **Pénfigo Vulgar**
- Anemia hemolítica autoinmune
- Púrpura trombocitopénica idiopática
- Penfigoide buloso
- Oftalmia simpática
- Enfermedad de Goodpasture

A continuación se resumen los mecanismos conocidos al momento, por medio de los cuales se desencadena un trastorno de autoinmunidad:

- 1. Selección negativa de los linfocitos.** Se presenta una alteración en la selección tímica de linfocitos T.(39)
- 2. Anergia clonal.** Las células T anérgicas a los autoantígenos pueden activarse con algunos mecanismos como interleucinas y factores de inflamación local producidos en las infecciones o daño tisular. (39)
- 3. Activación linfocitaria policlonal.** Se puede cambiar la respuesta inmune del huésped debido a la activación policlonal de células B y como consecuencia la formación de anticuerpos.(40)
- 4. Reactividad cruzada entre antígenos propios y extraños.** Se establece la respuesta inmunitaria normal frente a antígenos extraños, pero los anticuerpos o células T que se estimulan pueden reconocer una proteína propia similar.(40)
- 5. Regulación linfocítica anormal.** Una producción excesiva o desequilibrada de citocinas puede ser un mecanismo de estimulación anormal de los linfocitos.(41-42)
- 6. Expresión inapropiada de moléculas de clase II del CMH.** Existe un incremento en la expresión de moléculas de clase II del CMH en presencia de interferon gamma *in vitro*, inclusive en trauma e infecciones se presenta una respuesta inflamatoria con aumento de los niveles de interferon gamma. Las moléculas clase II son más importantes en la generación de autoinmunidad inducida por virus, a través del HLA DR, o por inducción directa.(43)

- 7. Producción de linfocitos.** Activación de citocinas como linfocinas e interferones ya sea por daño directo a las células o bien como resultado de un proceso inflamatorio. El incremento de IL2 provoca activación de células B y producción de autoanticuerpos.(44)
- 8. Disfunción de Idiotipo.** Se observa alteraciones inmunes en el huésped, con la generación de anticuerpos anti-idiotipo contra el idiotipo de las inmunoglobulinas séricas del paciente. A esto algunos autores le han llamado **conectividad**.(45)
- 9. Proteínas de Choque térmico.** Son una familia de proteínas que se producen en respuesta a elevadas temperaturas o estrés celular. Se ha observado que éstas también se encuentran en algunos microorganismos por lo que son altamente antigénicas, lo cual indica que se puede llegar a montar una respuesta de autoinmunidad.(46-47)
- 10.Daño tisular.** En algunas infecciones se puede producir daño a los diferentes tejidos y células, a partir de los cuales se inicia la respuesta inmune. Se produce citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos.(49)
- 11.Cambios en la estructura proteica.** La modificación de la estructura de las proteínas o la secuencia de los aminoácidos de las células provoca que el sistema inmune del huésped las detecte como extrañas y monte una respuesta inmune contra las mismas.(50)

CONECTIVIDAD

Nos enfocaremos específicamente a la interacción idiotipo-antiidiotipo, conocida también como *conectividad*, que es uno de los mecanismos de regulación de la respuesta inmune. (36-37)

Se define el IDIOTIPO como la característica antigénica de la región variable del anticuerpo.

Cuando se presenta una alteración en las interacciones idiotipo-antiidiotipo se pierde la autoregulación y clínicamente se manifiesta como enfermedad autoinmune. (51-52)

MECANISMOS DE LA AUTOINMUNIDAD

Durante el siglo pasado, Ehrlich llamó *horror autotoxicus* a la capacidad del sistema inmune de prevenir la respuesta hacia lo propio, considerándose que la autoinmunidad era excepcional y siempre patológica. (36)

Actualmente se sabe que la autoinmunidad no es necesariamente patológica ni ocasional, pues todos los individuos normales, especialmente durante el curso de algunas enfermedades infecciosas cursan con fenómenos autoinmunes. Por ello los conceptos sobre autoinmunidad y enfermedad autoinmune han sufrido modificaciones. Se conocen hoy en día muchos de los mecanismos de tolerancia inmunológica que evitan que el sistema inmune inicie una respuesta contra lo propio. (36)

Durante la ontogenia las células del sistema inmune desarrollan en forma aleatoria la capacidad para responder contra los antígenos extraños y propios. La mayoría de los linfocitos T y B que reconocen antígenos propios son eliminados inmediatamente después de su generación o bien se inactivan en la circulación periférica. De esta manera se previene el desarrollo de enfermedad autoinmune en la mayoría de los casos.

Sin embargo, la tolerancia inmunológica es insuficiente para eliminar o inactivar todas las células autorreactivas ya que prácticamente todos los individuos sanos son capaces de producir autoanticuerpos *in vitro* o *in vivo* ante un estímulo adecuado. Además, en individuos sanos también hay linfocitos T autorreactivos que no fueron eliminados o inactivados. Esta autorreactividad debe considerarse normal y es perfectamente compatible con la homeostasis. (37)

IV. TRABAJO DE INVESTIGACION

JUSTIFICACION

Recientemente en diversos estudios se ha observado patrones alterados de conectividad en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico, una de las principales enfermedades autoinmunes. Este hallazgo implica la pérdida de uno de los mecanismos responsables del control de la respuesta inmune.

Con base en lo anterior, resulta también de gran interés estudiar el patrón de conectividad en inmunoglobulinas séricas de pacientes con pénfigo, con lo cual se puede ayudar a explicar mejor la patogénesis de esta enfermedad de origen autoinmune así como la respuesta a tratamientos como la administración intravenosa de inmunoglobulina. No se encuentran en la literatura publicaciones al respecto previas al presente trabajo.

HIPOTESIS

Hipótesis Alterna:

Los pacientes con pénfigo presentan un patrón alterado de conectividad en inmunoglobulinas séricas en comparación con individuos sanos controles.

Hipótesis Nula:

Los pacientes con pénfigo no presentan un patrón alterado de conectividad en inmunoglobulinas séricas en comparación con individuos sanos controles.

OBJETIVO PRINCIPAL

- 1.- Comparar el patrón de conectividad en inmunoglobulinas séricas de pacientes con pénfigo con el de los individuos sanos.

DISEÑO DEL ESTUDIO

Se realizó un estudio observacional, prospectivo, transversal y analítico de **casos y controles** durante los meses de enero de 1997 a junio de 1998.

MATERIAL Y METODOS

POBLACION

Se incluyeron pacientes atendidos en el servicio de Dermatología del Hospital General de México así como individuos sanos voluntarios.

CRITERIOS DE INCLUSION

CASOS

1. Pacientes de ambos sexos, con diagnóstico de pénfigo comprobado por clínica, histopatología e inmunofluorescencia directa.
2. Pacientes sin tratamiento previo específico para pénfigo (esteroides o inmunosupresores).
3. Pacientes que no presentaran infección por el virus de la inmunodeficiencia humana, procesos neoplásicos o algún otro padecimiento autoinmune asociado.
4. Pacientes que aceptaron participar en el estudio y firmaron una carta de consentimiento informado.

CONTROLES

1. Individuos sanos.
2. Pareados por edad y sexo con casos.
3. Individuos que aceptaron participar en el estudio y firmaron carta de consentimiento informado.

CRITERIOS DE EXCLUSION

CASOS

1. Pacientes en los que no se comprobó el diagnóstico de pénfigo.
2. Pacientes que se encontraban con tratamiento inmunosupresor al momento de iniciar el estudio.
3. Pacientes con pénfigo paraneoplásico o inducido por medicamentos.
4. Pacientes con infección por VIH, procesos neoplásicos u otras enfermedades autoinmunes asociadas.
5. Pacientes que aceptaron participar voluntariamente en el estudio.

CONTROLES

1. Individuos con antecedentes personales patológicos positivos.
2. Individuos que no aceptaron participar en el estudio.

METODO

De cada paciente se realizó una ficha de recolección de datos en la cual se incluyeron datos demográficos, clínicos, terapéuticos así como la evolución.

De los pacientes elegibles y de los controles que aceptaron participar, se obtuvieron 10 cc. de sangre venosa periférica mediante venopunción. Estas muestras se centrifugaron para obtener los sueros.

De los sueros se estudiaron los anticuerpos tipo IgG de los que se separó la fracción F (ab)₂ mediante su digestión con pepsina.(Figura 1) Es en esta región del anticuerpo donde podemos encontrar el idiotipo y por lo tanto es posible estudiar las interacciones idiotipo-antiidiotipo. A estas fracciones se les realizó un gradiente de acuerdo a su punto isoeléctrico y pH, obteniendo así diferentes fracciones, a las cuales se les realizó la prueba de ELISA con el objetivo de determinar las interacciones idiotipo-antiidiotipo y por lo tanto obtener el **patrón de conectividad**.

La lectura final se realizó mediante la medición de la densidad óptica, en la cual, de acuerdo a la intensidad de la reacción colorimétrica obtenida es la intensidad de las interacciones idiotipo-antiidiotipo en forma directamente proporcional.

DEFINICIONES DE VARIABLES

CASOS

Variables demográficas:

Edad (años)

Sexo (Masculino o Femenino)

Lugar de origen (Estado)

Ocupación (Hogar, empleado, estudiante, etc)

Variable principal:

Patrón de conectividad en inmunoglobulinas séricas tipo IgG.
(Medida por valores de densidad óptica)

Variables secundarias:

Tipo de pénfigo (Vulgar, vegetante, foliáceo, seborreico)

Tiempo de evolución de su dermatosis

Topografía de inicio de la dermatosis

Tratamiento instituido por el servicio

Evolución intra o extrahospitalaria.

CONTROLES

VARIABLES DEMOGRÁFICAS

Edad (años)

Sexo (Masculino o Femenino)

VARIABLE PRINCIPAL

Patrón de conectividad en inmunoglobulinas séricas tipo IgG (Medida por los valores de densidad óptica).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis de los resultados se utilizaron las siguientes pruebas estadísticas:

- T-student
- Análisis de varianza

V. RESULTADOS

POBLACION

Se incluyeron en el estudio 16 pacientes con diagnóstico comprobado de pénfigo, los cuales cumplían los criterios de inclusión.

Se incluyeron 16 individuos sanos pareados por edad y sexo con los casos.

SEXO

Del total de pacientes incluidos en el estudio, predominó el sexo femenino con 9 casos, correspondiendo al 56.2 % y 7 pacientes del sexo masculino, correspondiendo al 43.8%. (Tabla 1)

EDAD

La edad promedio de los grupos estudios fue de 39.8 años, con una desviación estándar de 18.6 y un rango comprendido desde los 18 hasta los 76 años de edad. (Tabla 1)

LUGAR DE ORIGEN

Se incluyeron pacientes de diversos estados de la República Mexicana, predominando el Estado de México con 6 casos, posteriormente el Distrito Federal e Hidalgo con 3 casos cada uno, Puebla con 2 casos y por último Michoacán y Oaxaca con un caso respectivamente. (Tabla 2)

OCUPACION

En cuanto a la ocupación de los pacientes estudiados se encontró:

- Hogar5.....31.3%
- Ninguna4..... 25%
- Estudiante.....4.....25%
- Empleado.....2.....12.5%
- Campesino.....1.....6.2%

TIPO DE PENFIGO

Los pacientes estudiados correspondieron en su mayoría al tipo de pénfigo vulgar en el 68.7% de los casos (11 casos) y el 31.3% (5 casos) pertenecieron al tipo de pénfigo seborreico . (Gráfica 1).

TIEMPO DE EVOLUCION

Los pacientes presentaban una evolución de su dermatosis en promedio de 4.2 meses, con un rango amplio, el menor de ellos con evolución de 1 mes y el mayor de 1 año.

INICIO DE LA DERMATOSIS

En cuanto a la topografía de inicio de la dermatosis, se presentó en mucosa oral en 8 casos (50%), inicio en tronco en 5 casos (31.3%) y en piel cabelluda sólo en 3 casos (18.7%). (Gráfica 2)

MANEJO Y EVOLUCION

Cuatro pacientes (25 %) se manejaron en la Consulta Externa del Servicio de Dermatología del Hospital General de México y los 12 pacientes restantes (75%) requirieron hospitalización en el mismo servicio.

De los pacientes hospitalizados se obtuvo un promedio de estancia hospitalaria de 62.08 días.

La mayoría de los pacientes estudiados presentaron una evolución favorable, con remisión completa de la dermatosis, y requirieron continuar su control y revisión periódica en la Clínica de Inmunodermatología del Servicio de Dermatología del Hospital General de México; únicamente una paciente presentó una evolución tórpida cursando con sepsis y posteriormente falleció. Con estos datos podemos mencionar que la mortalidad fue muy baja, representada por el 3.2%.

Tanto los pacientes hospitalizados como los que se manejaron en la consulta externa recibieron tratamiento con inmunosupresores, algunos con prednisona sola y otros con terapia adyuvante: (Gráfica 3)

Prednisona	6 casos	37.5%
Prednisona + DDS	3 casos	18.8%
Prednisona + Azathioprina	7 casos	43.7%

PATRON DE CONECTIVIDAD

Se obtuvieron un total de 20 fracciones obtenidas de acuerdo al gradiente de pH y punto isoeléctrico, a las cuales se les midieron las interacciones idiotipo-antiidiotipo mediante la técnica de ELISA, con la medición final por medio de lectura de la densidad óptica. (Gráficas 4 y 5)

Se encontró que los valores de densidad óptica fueron significativamente mayores en todas las fracciones obtenidas de los pacientes con pénfigo en comparación con los valores de densidad óptica de las veinte fracciones obtenidas de los individuos sanos. (Gráfica 6).

El análisis estadístico comparativo de los valores observados reportó un valor de $p = 0.0274$.

VI. DISCUSION

Para que se manifiesten clínicamente las enfermedades autoinmunes, se requiere que la regulación de la respuesta inmune esté alterada, ya que en condiciones normales todos los individuos sanos tienen una mínima cantidad de autoanticuerpos, los cuales a su vez se encuentran autoregulados .

Este mecanismo de autoregulación puede perderse en cualquier momento. Hasta la fecha se desconoce cuales son los factores desencadenantes responsables de la pérdida de regulación.

La conectividad o interacción idiotipo-antiidiotipo de las inmunoglobulinas séricas es un mecanismo de regulación de la respuesta inmune. Cuando el patrón de conectividad se encuentra alterado nos indica pérdida de dicha regulación y por lo tanto la presentación de enfermedad autoinmune.

En el presente trabajo se evaluaron las interacciones idiotipo-antiidiotipo presentes en las inmunoglobulinas séricas tanto de pacientes con pénfigo como de individuos sanos y se obtuvo un patrón de conectividad en ambos grupos.

Al compararlos se observó que el patrón de conectividad en los pacientes con pénfigo se encuentra significativamente alterado en relación con el de los controles sanos. Este hallazgo es similar a lo observado en pacientes con lupus eritematoso sistémico y permite explicarnos mejor la naturaleza autoinmune del pénfigo.

VII. CONCLUSIONES

1.- Se estudiaron 16 pacientes con pénfigo sin tratamiento previo en los que la mayoría (56.2%) fueron del sexo femenino, con un promedio de edad de 39.8 años; predominó el tipo clínico de pénfigo vulgar, iniciando la dermatosis más frecuentemente en mucosa oral y con un promedio de evolución de 4 meses.

2.- Se observó un patrón alterado de conectividad en inmunoglobulinas séricas tipo IgG de pacientes con pénfigo en comparación con el grupo de controles sanos.

3.- La diferencia entre ambos grupos fue estadísticamente significativa.
($p = 0.0274$).

4.- El patrón alterado de conectividad en pacientes con pénfigo demuestra similitud con lo observado en otras enfermedades autoinmunes como en el caso específico del Lupus Eritematoso Sistémico.

5.- Con el presente estudio se explica la alteración en uno de los mecanismos responsables de la regulación de la respuesta inmune en pacientes con pénfigo.

6.- En virtud de haber demostrado en el presente trabajo que la conectividad se encuentra alterada en el pénfigo se propone una alternativa terapéutica: **Inmunoglobulina humana intravenosa** como terapia adyuvante, la cual se ha demostrado que actúa como regulador de la respuesta inmune alterada , logrando un equilibrio entre las interacciones idiotipo-antiidiotipo.

VIII. BIBLIOGRAFIA

1. Darier. Nouvelle Pratique Dermatologique. Tomo VIII. France 1936. Masson et cie. Editores.
2. Degos, R. Dermatologie. France 1935. Flammarion Médecine-Sciences.
3. Dahl, Mark. Clinical Immunodermatology. Edit. Mosby . 3era edición. Minnessota. P225-231
4. Becker, B; Gaspari, A. Pemphigus vulgaris and vegetans. Dermatol Clin 1993; 11:429-51.
5. Estadísticas Servicio de Dermatología, Hospital General de México, Organismo Descentralizado, Secretaria de Salud.
6. Stanley, J. Chapter 52, Pemphigus in Dermatology in General Medicine. Fitzpatrick. Ed. McGraw Hill., 4th ed. 1993.
7. Pizarro, A; Navarro, P. Los antígenos del pénfigo. Piel 1992; 7: 429-31.
8. Salas, JC; Bhogal, B; Black, M. Inmunofluorescencia de las enfermedades ampollas autoinmunes. Dermat. Rev. Mex. 1994; 38(2): 104-142.
9. Hashimoto, I; Amagi, M; Nishikawa, T. Detection of autoantibodies against bullous pemphigoid and pemphigus antigens by an enzyme linked immunosorbent assay using the bacterial recombinant proteins. Exp. Dermatol 1995, 4(2): 112-6.

10. Matzner, Y; Erlich, H; Brautbar, C; et al. Identical HLA class II alleles predispose to drug triggered and idiopathic pemphigus vulgaris. *Acta Derm Venerol* 1995 75(1): 12-4
11. Iwatsukim, K; Harada, H; Yokote, R; et al. Differences in the expression of pemphigus antigens during epidermal differentiation.. *Br J Dermatol* 1995; Aug 133(2): 209-16
12. Brenner, S; Ruocco, V; Wolf, R; et al. Pemphigus and dietary factors, in vitro acantholysis by allyl compounds of the genus *Allium*. *Dermatology* 1995; 290(3): 197-202
13. Khorenian, S; Lebowitz, M. New cutaneous manifestations of systemic diseases. *Am Fam Physician* 1995, 51(3): 625-30
14. Lever, W. Capitulo 7. Enfermedades vesiculares y ampollares no infecciosa, en *Histopatología de la piel*. Ed. Intermédica, 7ma ed. 1991
15. Emery, D; Díaz, J; Fairley, J; et al. Pemphigus foliaceus and pemphigus vulgaris autoantibodies react with the extracellular domain of desmoglein I. *J. Invest Dermatol* 1995; 104(3):323-8.
16. Amagai, M. Adhesion molecules I: Queratinocyte-queratinocyte interactions, cadherins and pemphigus. *J Invest Dermatol* 1994; 104(1): 146-52.
17. Bystryn, J. Therapy of pemphigus. *Seminar in Dermatol* 1998; 7:186-194 .
18. Mourellou, O; Chaidemenos, G; Koussidou, T, et al. The treatment of pemphigus vulgaris. Experience with 48 patients seen over an 11 year period. *Br J of Dermatol* 1995; 133:83-87.

19. Fine J. Management of acquired bullous skin diseases. *New Eng J of Med* 1995; 333(22):1475-83
20. Lapidoth, M; David, M; Amitai, D; et al. The efficacy of combined treatment with prednisone and cyclosporine in patients with pemphigus: Preliminary study. *J Am Acad Dermatol* 1994; 30:752-7.
21. Machet, M; Stephanov, E; Esteve, E. et al. Cutaneous *Alternaria* infection occurring in the course of a treated pemphigus. *Ann Pathol* 1994; 14 (3): 16-91
22. Ogilvie, M; Kessler, M; Leppard, B.; et al. Herpes simplex infections in pemphigus: an indication for urgent viral studies and specific antiviral therapy. *Br J of Dermatol* 1983; 109:611-13.
23. Negrosanti, M; Cevenini, R; Ghetti, P; et al. Severe herpetic gingivostomatitis associated with pemphigus vulgaris. *Arch Dermatol* 1984; 120: 540-2.
24. Keane, J; Maldinson, F; Bryant, J; et al. Herpesvirus hominis hepatitis and disseminated intravascular coagulation. *Arch Intern Med* 1976; 136:1312-7.
25. Orenstein, J; Castadot, M; Wilens, S. Fatal herpes hepatitis associated with pemphigus vulgaris and steroids in an adult. *Hum Pathol* 1974; 5: 489-93
26. Wever, S.; Zillkens, D.; Bröcker, E. Successful treatment of refractory mucosal lesions of pemphigus vulgaris using intravenous gammaglobulin as adjuvant therapy. *Br J of Dermatol. Letter* 1996; 135: 852-66

- 27.- Humbert, P.; Derancoourt, C.; Aubin, F.; Agache, P. Effects of intravenous gammaglobulin in pemphigus. *J Am Acad Dermatol. Letter* 1996; 34: 326.
- 28.- Messer, G.; Sizmann, N.; Feucht, H.; Meurer, M. High-dose intravenous immunoglobulins for immediate control of severe pemphigus vulgaris. *Br J Dermatol* 1995; 133: 1010-8.
- 29.- Sultan, Y.; Maisonneuve, P.; Kazatchkine, M.; Nydegger, U. Anti-idiotypic suppression of autoantibodies to factor VIII (antihemophilic factor) by high-dose intravenous gammaglobulin. *Lancet*; 1984; Oct 6:765-68.
- 30.- Geha, R. Regulation of the immune response by idiotype-antiidiotype interactions. *Med Intel* 1981;305 (1):25-8.
- 31.- Ballou, M. Mechanism of action of intravenous immune serum globulin in autoimmune and inflammatory diseases. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100:151-7.
- 32.- Beckers, R.; Brand, A.; Vermeer, B.; Bom, B. Adjuvant high-dose intravenous gammaglobulin in the treatment of pemphigus and bullous pemphigoid: experience in six patients. *Br J of Dermatol* 1995; 133: 289-293.
- 33.- Godard, W.; Roujeau, J.; Guillot, B.; Andre, C.; Rife, G. Bullous pemphigoid and intravenous gammaglobulin. *Letter. Ann Intern Med*, 1995; 38:965.
- 34.- Collet, E.; Kalac, S.; maerens, B.; Courtois, J.; Izac, M.; Lambert, D. Juvenile dermatomyositis: treatment with intravenous gammaglobulin. *Br J Dermatol* 1994; 130:231-4.
- 35.- Jolles, S.; Hughes, J.; Whittaker, S. Dermatological uses of high-dose intravenous immunoglobulin. *Arch Dermatol* 1998; 134:80-6.

- 36.- Moreno, J. "Mecanismos de autoinmunidad" en Respuesta inmune y mecanismos de autoinmunidad. Noriega Editores. México 1995. p79-104.
- 37.- Theofilopoulos, A.N. The basis of autoimmunity: part I. Mechanisms of aberrant T cell recognition. Immunol Today 1995; 16:90-8.
- 38.-Theofilopoulos, A.N. The basis of autoimmunity: part II genetic predisposition. Immunol Today 1995; 16: 150-9.
- 39.- Roitt, I. "Autoimmunity and autoimmune diseases" en Immunology. Gower Medical Publishing. N. York 1989. P23.2-23.11.
- 40.- Bach, J. Organ-specific autoimmunity. Elsevier Science, 1995. Congress perspective.
- 41.- Sinha, A; López, M; Mcdevitt,H. Autoimmune disease: the failure of self-tolerance. Science 1990; 248:1380.
- 42.- Waldman, H. Manipulation of T cell responses with monoclonal antibodies, Ann Rev Immunol, 1989; 7:407
- 43.- Wucherpfennig, K; Yu, B; Bhol, K; Monos, D; Argyris, E; Karr, R; Ahmed, A; Strominger, J. Structural basis for major histocompatibility complex (MHC)-linked susceptibility to autoimmunity: Charged residues of a single MHC binding pocket confer selective presentation of self-peptides in pemphigus vulgaris. Proc Natl Acad Sci USA, 1995; 92: 11935-39.
- 44.-Schattner, A. Lymphokines in autoimmunity-A critical review. Clin Immunol and Immunopathol 1994; 70(3): 177-89.

- 45.- Shoenfeld, Y. Idiotypic induction of autoimmunity: a new aspect of the idiotypic network. *FASEB J* 1994; 8: 1296-1301.
- 46.- Pugliese, A; Eisenbarth, G. Type I diabetes mellitus: Lessons for human autoimmunity. *J Lab Clin Med*, 1992; 120(3): 363-6.
- 47.- Iwakura, Y; Saijo, S; Kioka, Y, Nakayama, J; Itagaki, K; Tosu, M; Asano, M; et al. Autoimmunity induction by human T cell leukemia virus type 1 transgenic mice that develop chronic inflammatory arthropathy resembling rheumatoid arthritis in humans. *Semin Arth and Rheum* 1995; 28 (3):102-6.
- 48.- Lorber, M; Gershwin, E; Shoenfeld, Y. The coexistence of systemic lupus erythematosus with other autoimmune diseases: The kaleidoscope of autoimmunity. *Semin in Arth and Rheum* 1994; 24 (2): 105-113
- 49.- Cavallo, M; Pozzilli, P; Thorpe, R. Cytokines and autoimmunity. *Clin Exp Immunol* 1994; 96: 1-7.
- 50.- Cohen, A; Shoenfeld, Y. The viral autoimmunity relationship. *Viral-Immunol* 1995; 8(1): 1-9.
- 51.- Ayouba, A.; Ferreira, C.; Coutinho, A. Distinguishable patterns of connectivity in serum immunoglobulins from SLE patients and healthy individuals. *Scand J Immunol* 1997; 45:408-16.
- 52.- Ferreira, C.; Mouthon, A.; Nobrega, A.; Haury, M.; Kazatchkine, M.; Ferreira, E.; et al. Instability of natural antibody repertoires in systemic lupus erythematosus patients revealed by multiparametric analysis of serum antibody reactivities. *Scand J Immunol* 1997; 45:331-41.

IX. ANEXOS

$F(ab)_2$



Figura 1. Separación de la fracción $F(ab)_2$ de las inmunoglobulinas.

Tabla 1. Datos Demográficos

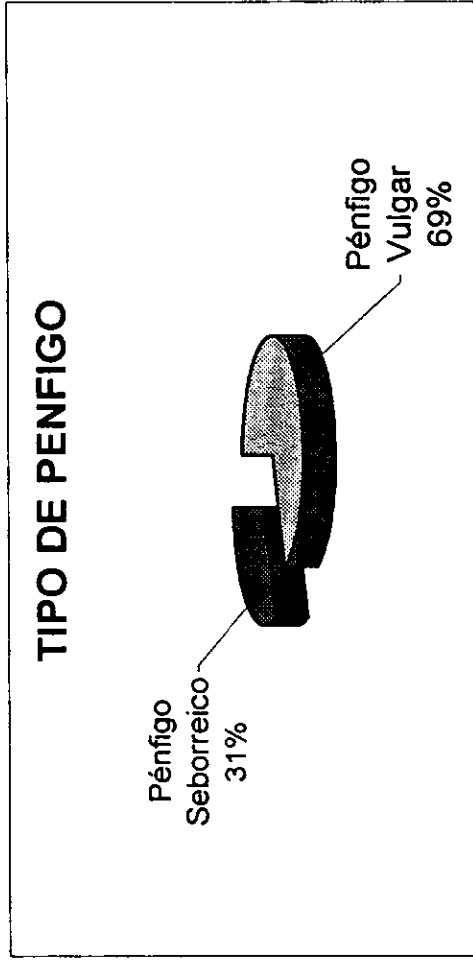
SEXO	NUMERO DE CASOS	PORCENTAJE
Femenino	9 casos	56.2%
Masculino	7 casos	43.8%
Total	16 casos	100%

EDAD	
Promedio	39.8 años
Rango	18 a 76 años
D.E.	18.6

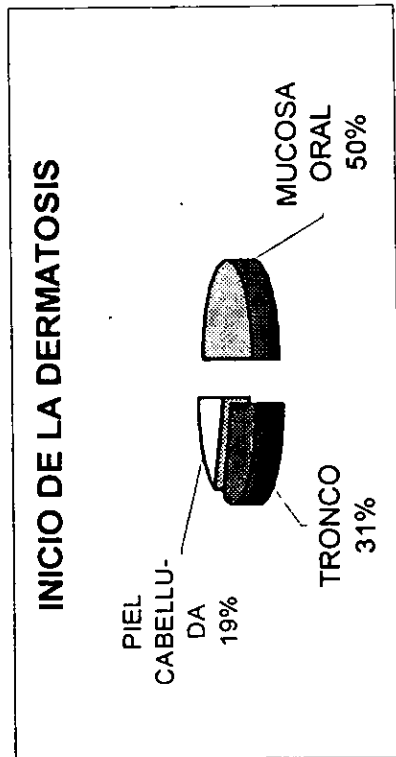
Tabla 2. Lugar de Origen

ESTADO DE LA REPUBLICA	NUMERO DE PACIENTES	PORCENTAJE
Estado de México	6	37.5 %
Distrito Federal	3	18.8 %
Hidalgo	3	18.8 %
Puebla	2	12.5 %
Michoacán	1	6.2 %
Oaxaca	1	6.2 %

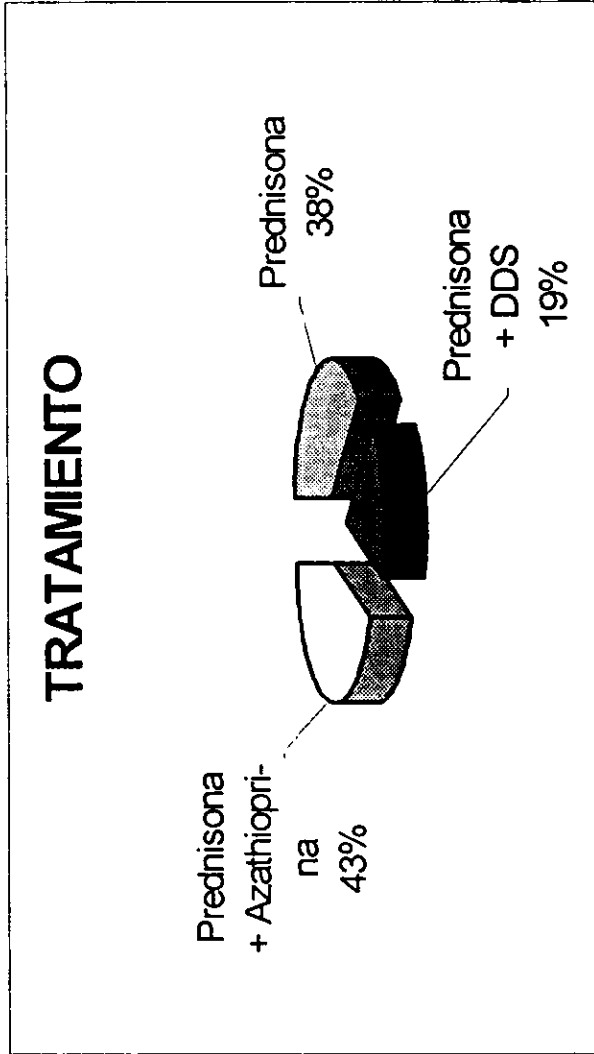
Gráfica 1. Tipo de Pénfigo

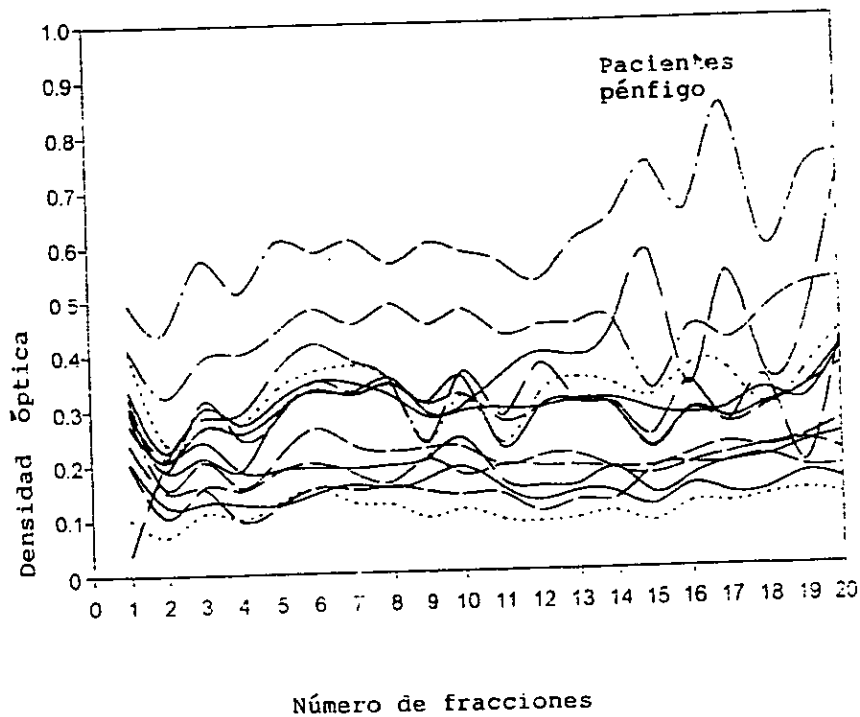


Gráfica 2. Inicio de la dermatosis

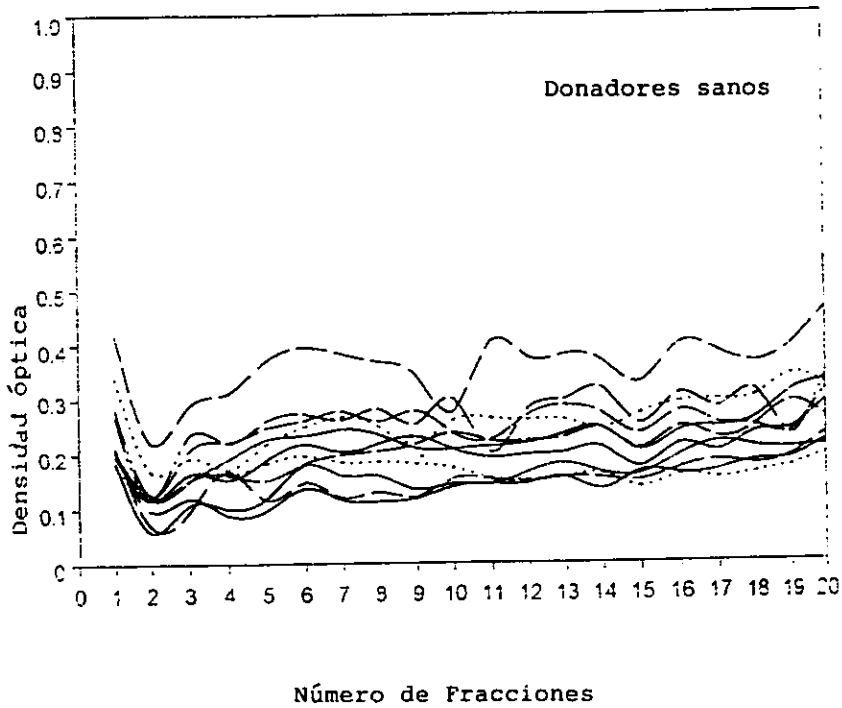


Gráfica 3. Tratamiento

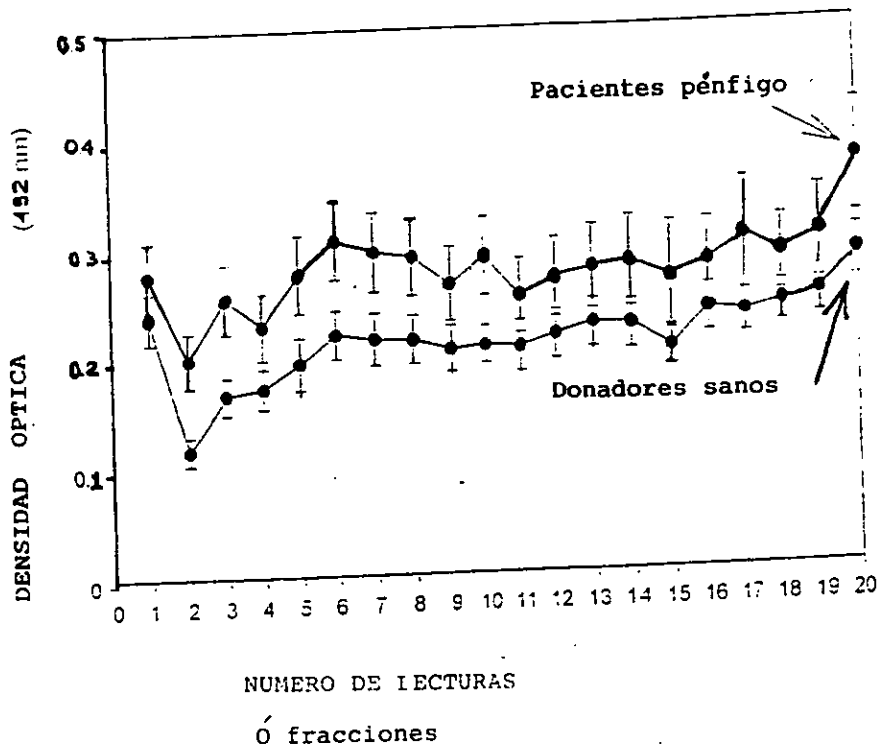




Gráfica 4. valores de densidad óptica en pacientes con pênfigo



gráfica 5. Valores de densidad óptica en donadores sanos



Gráfica 6. Patrón de Conectividad