



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

“DIAGNÓSTICO DE PROBLEMAS INMUNOMEDIADOS
EN LA PIEL DE CANÍDEOS DE LA ZONA
METROPOLITANA”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA:

JUAN MANUEL RIVERA LIRA

ASESOR: DR. GUILLERMO VALDIVIA ANDA
COASESOR: M EN C. JUAN CARLOS DEL RÍO GARCÍA



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
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE

EXAMENES PROFESIONALES

ATN: L. A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis:

Diagnóstico de problemas inmunomediados en la piel de canfeos de la zona Metropolitana.

que presenta el pasante: Juan Manuel Rivera Lira
con número de cuenta: 09311012-9 para obtener el título de :
Médico Veterinario Zootecnista

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 16 de noviembre de 2007

PRESIDENTE

Dr. Carlos Ignacio Soto Zárate

VOCAL

Dr. Guillermo Valdivia Anda

SECRETARIO

MVZ. Ignacio Carlos Rangel Rodríguez

PRIMER SUPLENTE

MVZ. Blanca Rosa Moreno Cardenti

SEGUNDO SUPLENTE

M.C. Marco Antonio Muñoz Guzmán

“Les pido que nos detengamos a pensar en la grandeza a la que todavía podemos aspirar si nos atrevemos a valorar la vida de otra manera. Nos pido ese coraje que nos sitúa en la verdadera dimensión del hombre.”

Ernesto Sabato

“Sólo es verdaderamente feliz aquel que es el verdadero protagonista de su vida.”

Nelson Mandela

AGRADECIMIENTOS

Trabajo financiado por los proyectos:

Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT)
IN216005.

Cátedra de investigación FESC No. IN214.

Programa de Apoyo a Proyectos para el Mejoramiento de la Enseñanza (PAPIME)
EN208304.

El trabajo fue realizado con el equipo e instalaciones del Laboratorio de Diagnóstico Integral Veterinario (DIVET) y la Unidad de Investigación Multidisciplinaria en Salud Animal de la FESC, Campo 4.

A mi asesor, el Dr. Guillermo Valdivia Anda, por dirigir este trabajo.

A mi coasesor, el M en C. Juan Carlos Del Río García, por su valiosa colaboración.

Al H. Jurado, por los comentarios que ayudaron a mejorar este trabajo.

Al personal del laboratorio DIVET, por toda la ayuda que me brindaron.

A la Lic. Jéssica Páez Arancibia, por su asesoría y consejos, pero sobretodo por su amistad.

Al MVZ. Óscar Contreras Valdés, por todas las enseñanzas que de él he recibido.

Al MVZ. José Nicolás Molina Del Valle, por la confianza que me ha otorgado desde que laboro con el.

Al Sr. José Vicente Molina Del Valle, por darme la oportunidad de seguir adelante con este proyecto, pero ante todo por ofrecerme su amistad.

DEDICATORIA

A MIS PADRES. Por el ejemplo de vida que me han dado.

A MIS HERMANOS. De quienes siempre he tenido su apoyo y cariño. Ustedes saben que en este trabajo estamos todos.

A MI FAMILIA. Que es lo más grande que tengo.

A SOPHIA. Por supuesto.

A MIS AMIGOS. Porque han estado conmigo en los buenos y en los malos tiempos.

ÍNDICE.

Página

1. Resumen.....	3
2. Introducción.....	4
3. Antecedentes.....	11
4. Enfermedades inmunológicas.....	12
5. Diagnóstico de las dermatosis inmunomediadas.....	15
6. Hipótesis.....	19
7. Objetivo general.....	19
8. Objetivos particulares.....	19
9. Justificación.....	20
10. Material y métodos.....	21
11. Obtención de muestras.....	21
12. Procesamiento y conservación.....	21
13. Técnica histopatológica.....	22
14. Técnica inmunohistoquímica.....	23
15. Criterios histopatológicos.....	24
16. Resultados.....	25
17. Relación marcaje histopatológico y marcaje con inmunoperoxidasa.....	28
18. Discusión.....	29
19. Conclusiones.....	34
20. Propuestas.....	35
21. Apéndice I.....	36
22. Fotografías inmunoperoxidasa.....	44
23. Bibliografía.....	45

RESUMEN.

Este trabajo fue realizado en conjunto con el laboratorio de diagnóstico veterinario DIVET y la unidad de investigación multidisciplinaria en salud animal, (UIMSA) de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Campo IV, bajo la dirección del Dr. Guillermo Valdivia Anda.

El estudio comprende una revisión de la anatomía y fisiología cutánea, del sistema inmune, así como de las causas de alteración en la piel de los caninos. Dentro de las causas de alteración se encuentran las enfermedades inmunológicas, las cuales abarcan desde las alergias hasta las enfermedades autoinmunes. Las dermatopatías inmunomediadas son poco comunes en perros y gatos, y se caracterizan por una respuesta inmune inapropiada. Se han dividido en primarias o autoinmunes y secundarias o inmunomediadas. Dentro de éstas patologías se encuentran el complejo pénfigo y el lupus eritematoso discoide y sistémico.

El diagnóstico de estas afecciones requiere la demostración de los cambios histopatológicos característicos, y de forma ideal, la demostración de autoanticuerpos o inmunocomplejos. Las pruebas empleadas para la detección de autoanticuerpos o inmunocomplejos incluyen la inmunofluorescencia y la inmunohistoquímica (inmunoperoxidasa).

El objetivo del trabajo fue desarrollar el método de diagnóstico por inmunoperoxidasa para problemas en la piel de los caninos.

Se obtuvieron 24 muestras de tejido para la realización de diagnóstico histopatológico, de las cuales 10 fueron de machos, 7 de hembras y en 7 de los casos no se reportó el sexo del animal. Una vez que se establecieron los criterios para categorizar cada caso, se procedió a estandarizar la técnica de inmunoperoxidasa para la detección del anticuerpo anti IgG canino.

De los 24 casos que se presentaron, se obtuvo un marcaje positivo en 17 de ellos, en 7 casos no se observó marcaje.

La enfermedad que más se presentó en esta población fue el pénfigo eritematoso.

No fue factible determinar predisposición racial, de sexo o edad en los animales.

INTRODUCCIÓN.

La piel es el órgano más extenso y visible del cuerpo y la barrera anatómica y fisiológica entre el animal y el medio ambiente. Además, la piel es sinérgica con los sistemas orgánicos internos y por ello refleja el medio interno y, al mismo tiempo, el caprichoso mundo al que está expuesto (Álvarez, 2001; Banks, 1996; Junqueira, 2002; Nolasco, 1996; Scott, 2002).

En los orificios corporales naturales, la piel se continúa con la mucosa, ya sea digestiva, respiratoria, ocular o urogenital. Su espesor varía dependiendo del área anatómica, es más delgada en la axilas, ingle, zona perianal y pabellones auriculares, mientras que es más gruesa en el dorso del tórax y cuello, frente y base de la cola (Álvarez, 2001).

Entre las funciones y propiedades más importantes de la piel se encuentran: protección contra las lesiones físicas, químicas y microbiológicas, sus componentes sensitivos perciben el calor, frío, prurito, tacto y presión, movimiento y forma, producción de anexos, regulación de la temperatura, reserva de nutrientes, indicador de la salud general, inmunorregulación, pigmentación, acción antimicrobiana, percepción sensitiva, secreción, excreción y producción de vitamina D (Álvarez, 1995; Álvarez, 2001; Banks, 1996; Junqueira, 2002; Nolasco, 1996; Ross, 1998; Scott, 2002; Stevens, 1999; Trigo, 1998).

ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA CUTÁNEA

La piel normal del perro es suave, flexible, lisa y de temperatura neutra al tacto (la temperatura de la piel debajo del pelo es de 35-39°C). La piel no pigmentada es de color amarillo pálido o gris pálido y en donde es fina, como en el abdomen, los vasos cutáneos son visibles (Lloyd, 1999).

Anatómicamente la piel se ha dividido en tres capas: epidermis, dermis e hipodermis. La epidermis se desarrolla a partir del ectodermo, en tanto que la dermis y la hipodermis, del mesodermo (Álvarez, 1995; Álvarez, 2001; Banks, 1996; Junqueira, 2002; Nolasco, 1996; Ross, 1998; Scott, 2002; Stevens, 1999).

EPIDERMIS

Es la capa más superficial, y es la más delgada. Cuenta con cinco estratos y varios

tipos celulares. Los estratos son: córneo, lúcido, granuloso, espinoso y basal. Los tipos celulares son: queratinocitos, melanocitos, células de Langerhans, que forman parte del sistema inmunitario, procesando y presentando antígenos a los linfocitos, y células de Merkel, que funcionan como mecanorreceptores.

La epidermis varía en su espesor dependiendo del área anatómica, siendo más espesa en las almohadillas plantares y en el plano nasal (Álvarez, 2001; Banks, 1996; Junqueira, 2002; Nolasco, 1996; Ross, 1998; Scott, 2002; Stevens, 1999).

MEMBRANA BASAL.

La membrana basal es la zona de la piel que se encuentra entre la epidermis y la dermis. Su importancia radica en que establece la unión entre la dermis y la epidermis, da soporte a la epidermis, mantiene la arquitectura de los tejidos, promueve la cicatrización y regeneración, y en su función como barrera.

DERMIS.

La dermis es el tejido conectivo subyacente de la epidermis, ésta representa la mayor parte del espesor de la piel, y está compuesta por fibras, sustancia fundamental y células, además contiene los apéndices epidérmicos, músculos piloerectores, vasos sanguíneos y linfáticos y nervios (Álvarez, 2001). Se describen dos zonas, una papilar y una reticular. La función de la dermis consiste en dar la resistencia a la tracción y elasticidad de la piel, en la remodelación, mantenimiento y reparación de ésta, y además modula la estructura y función de la epidermis (Álvarez, 2001; Banks, 1996; Junqueira, 2002; Nolasco, 1996; Ross, 1998; Scott, 2002; Stevens, 1999).

TELA SUBCUTÁNEA.

La tela subcutánea está formada principalmente por tejido adiposo, compuesto por adipocitos, vasos sanguíneos, nervios y tejido conectivo. Su espesor varía dependiendo del sitio anatómico, es la capa más espesa de la piel en algunas áreas y estando ausente en otras (labios, carrillos, oído externo, ano). Según la región en estudio y el grado de nutrición del organismo, la hipodermis puede tener una capa variable de tejido adiposo que, cuando está desarrollado, constituye el panículo adiposo. Sus funciones son: reserva energética, termogénesis y aislamiento, colchón protector y de sostén, y mantiene los contornos superficiales.

También es importante como reservorio, en el metabolismo de esteroides y en la producción estrogénica (Álvarez, 2001; Banks, 1996; Junqueira, 2002).

APORTE SANGUÍNEO, NERVIOS Y VASOS LINFÁTICOS.

La irrigación de la piel es extensa y está organizada en tres plexos vasculares: subcutáneo, subpapilares superficial y profundo. Las venas de estos plexos son satélites de las arterias, es decir, se localizan en la periferia de éstas, y se encuentran con frecuencia anastomosis arteriovenosas. Los patrones vasculares varían con la región del cuerpo. Los nervios de la piel son una mezcla de fibras nerviosas motoras y sensitivas. Los nervios viscerales eferentes generales del sistema nervioso simpático inervan el músculo liso de las paredes vasculares, los músculos piloerectores y las células mioepiteliales de glándulas tubulares. Sin embargo, casi todos los nervios de la epidermis y dermis son fibras somáticas aferentes. Los capilares linfáticos con terminales ciegas están en las papilas dérmicas y se continúan con una red de vasos linfáticos que atraviesan la región papilar de la dermis. Después, estos vasos linfáticos, que acompañan a vasos sanguíneos en la hipodermis, coalescen para formar grandes conductos linfáticos que transportan materiales a los linfonodos periféricos (Álvarez, 2001; Banks, 1996; Junqueira, 2002).

PELO.

Los folículos pilosos son crecimientos internos de la epidermis y la membrana basal localizados en la dermis subyacente. Al inicio del desarrollo es un engrosamiento epidérmico que se convierte en un cordón celular prominente. Dicho cordón sólido de epidermis invaginante sufre una canalización que forma un espacio para el futuro pelo. La epidermis invaginada restante se continúa con la cubierta de la raíz externa, la cual a su vez se continúa con la matriz germinal en la base del folículo en desarrollo. Dicha matriz forma el pelo y la cubierta de la raíz interna (Álvarez, 2001; Banks, 1996; Bouhanna, 1999; Junqueira, 2002; Scott, 2002).

GLÁNDULAS DE LA PIEL.

Las glándulas cutáneas, sebáceas y sudoríparas, por lo general se relacionan con el pelo.

Las primeras producen sebo, que se forma de ácidos grasos acumulados, colesterol y precursores de vitamina D, y depositan sus productos dentro del folículo; sin embargo, algunas pueden vaciarse de manera independiente sobre la piel.

Las segundas se hallan en los folículos o se abren independientemente en la superficie. Las glándulas sudoríparas realizan funciones de enfriamiento y de secreción. El producto de secreción es acuoso o seroso y ligeramente alcalino (Álvarez, 2001; Banks, 1996; Junqueira, 2002; Scott, 2002).

La piel es metabólicamente muy activa y es el órgano más grande del cuerpo. Por lo tanto, sus demandas nutritivas y el metabolismo corporales son grandes. Se cree que un cuarto de las proteínas consumidas diariamente es utilizado por la piel para la producción de pelos nuevos y epidermis. La creación de nuevas células y la actividad secretora de la piel requieren un suministro lipídico apropiado. (Lloyd, 1999).

SISTEMA INMUNE.

La función del sistema inmunitario consiste en reconocer lo propio de lo extraño. En general, esta respuesta es un mecanismo protector contra agentes microbianos y ambientales. El sistema inmune está compuesto por células y moléculas responsables de la defensa del huésped frente a patógenos invasivos. A través de una red de vías interrelacionadas, el sistema inmune protege a los individuos de la infección, elimina las sustancias extrañas, elimina los tejidos dañados o envejecidos y monitorea y destruye a las células cancerosas del organismo. La capacidad para generar y mantener la memoria de la naturaleza molecular o antigenicidad de un patógeno invasivo permite también una respuesta más rápida en los sucesivos contactos (Bautista, 1995; Heaton, 2002; Schultz, 1999; Tizard, 1998; Werner, 1999).

En los individuos sanos existen dos tipos de función inmune, estrechamente relacionados desde el punto de vista bioquímico: inmunidad innata e inmunidad adquirida (Bautista, 1995; Day, 1999; Heaton, 2002; Tizard, 1998).

INMUNIDAD INNATA.

Los mecanismos inmunes innatos (naturales) actúan como primera línea de defensa frente a los patógenos infecciosos, no se estimulan tras la exposición y no discriminan entre sustancias extrañas. Las barreras innatas consisten en diversas barreras físicas y químicas tales como la piel, las membranas mucosas y el entorno ácido del estómago, así como componentes celulares y no celulares como los mediadores de la inflamación.

Mientras que originalmente se ha considerado que la inmunidad innata es inespecífica por naturaleza, evidencias recientes sugieren que la respuesta inmune innata puede tener diversos receptores de reconocimiento, llamados receptores “toll”, que no sólo detectan la presencia de un microorganismo, sino que también determinan el tipo de agente infeccioso. Este sistema se basa en el hecho de que los microorganismos invasores son químicamente muy distintos de los componentes corporales sanos. Así, los animales cuentan con enzimas que digieren las paredes celulares de las bacterias y las proteínas unidas a carbohidratos que cubren las bacterias, lo que acelera su destrucción. También cuentan con células que reconocen las estructuras moleculares asociadas a los microorganismos invasores y desencadenan sus destrucción (Bautista, 1995; Day, 1999; Heaton, 2002; Tizard, 1998).

INMUNIDAD ADQUIRIDA.

La elaboración de una respuesta inmune específica requiere una serie compleja de interacciones del sistema inmune con el patógeno invasivo. Las respuestas inmunes adquiridas (adaptadas) se estimulan tras la exposición a los patógenos, son específicas para los distintos patógenos y “recuerdan” exposiciones previas, lo que produce un aumento de la magnitud de la respuesta tras la re-exposición a un patógeno dado. Las respuestas inmunes adquiridas también amplifican los mecanismos protectores de la inmunidad innata y dirigen a las células inflamatorias a los sitios de entrada del patógeno.

El punto central de la respuesta inmune adquirida es la activación de clones de linfocitos que reconocen específicamente a los patógenos y se unen a ellos a través de receptores antigénicos específicos.

Los linfocitos se agrupan según su función en poblaciones linfocitarias B y T. El sistema de inmunidad adquirida consiste en dos ramas principales. Una de ellas se dirige contra los invasores extracelulares o exógenos, los cuales son destruidos por los anticuerpos. La otra rama combate a los invasores intracelulares o endógenos que ocasionan anomalías celulares. Células citotóxicas especializadas tienen a su cargo la destrucción de estas células anormales (Figura 1). (Bautista, 1995; Day, 1999; Heaton, 2002; Tizard, 1998).

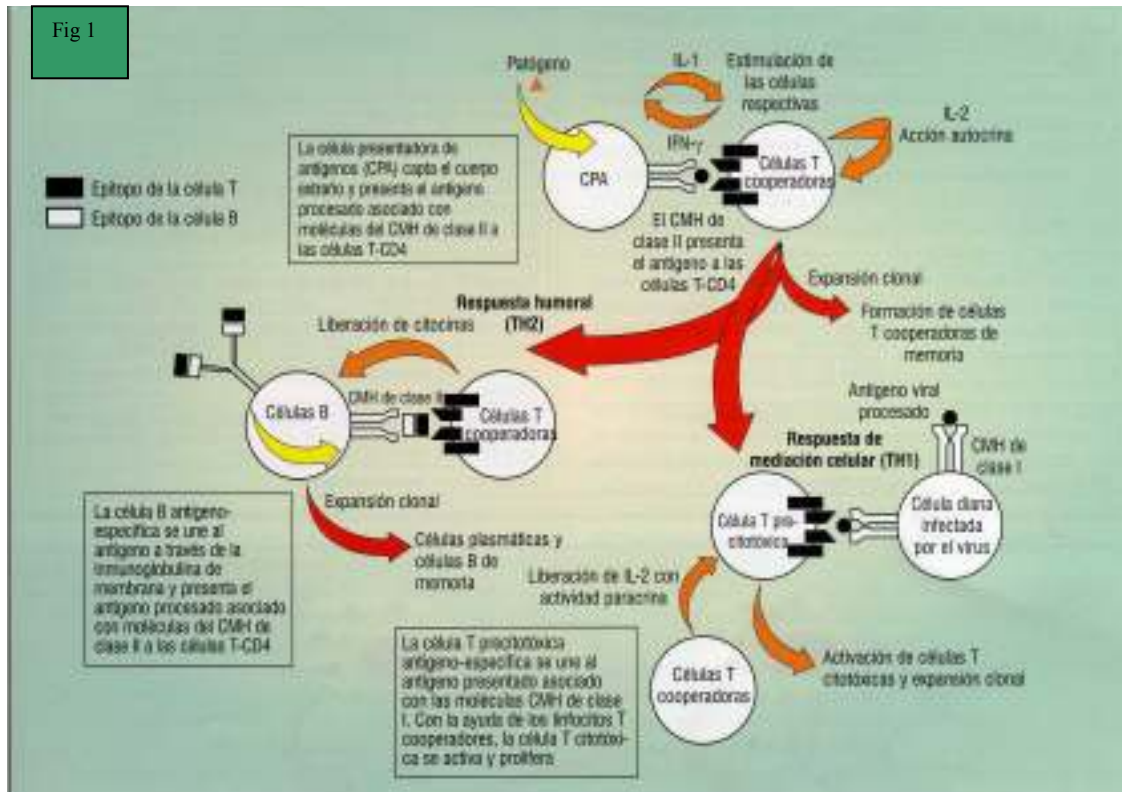


Figura 1. Respuesta inmune normal. (Tomado de Heaton, 2002.)

Los problemas de la piel y el pelo son una fuente común de preocupación para los dueños de los perros debido principalmente a la creencia de que un pelaje brillante y bien cuidado es indicador de la salud general. Se ha estimado que el 20 al 75% de los pequeños animales atendidos en una clínica de medicina general tienen problemas de la piel, ya sea como queja principal o simultánea (Nagata, 2000). Aun cuando las dermatosis inmunomediadas están bien reconocidas, son poco comunes en el perro y en el gato. Se comunicó que estas dermatopatías representan el 1.4 y 1.3%, respectivamente de todas las afecciones caninas y felinas examinadas por el servicio dermatológico de un centro universitario (Scott, 2002).

Éste tipo de afecciones dermatológicas se divide en primarias o autoinmunes y secundarias o inmunomediadas. En la enfermedad autoinmune se desarrollan anticuerpos o linfocitos activados contra los constituyentes corporales normales.

Las afecciones secundarias o inmunomediadas son fenómenos donde la destrucción tisular se debe a un evento inmunológico no dirigido contra los autoantígenos. (Scott, 2002).

ANTECEDENTES.

SISTEMA INMUNE CUTÁNEO.

La piel es un componente importante del sistema inmunitario corporal y mantiene una vigilancia activa sobre los agentes que están en contacto con la superficie cutánea. El fallo en la inmunidad cutánea puede producir una variedad de problemas que van desde una infección o infestación cutánea de bajo grado hasta una enfermedad microbiana grave y una neoplasia potencialmente letal (Lloyd, 1999).

El sistema inmune cutáneo contiene dos componentes mayores, el celular y el humoral. El componente celular comprende queratinocitos, células dendríticas epidérmicas (células de Langerhans), linfocitos, macrófagos tisulares, mastocitos, células endoteliales y granulocitos. Los componentes humorales incluyen inmunoglobulinas, componentes del complemento, fibrinolisinias, citocinas, eicosanoides, neuropéptidos y péptidos antimicrobianos (Scott, 2002).

La epidermis muchas veces es considerada el productor de la barrera efectiva entre el mundo exterior y el ambiente interno corporal. En su función, la epidermis opera como una barrera mecánica, porque suele ser el primer componente del cuerpo expuesto a los agentes ambientales como virus, bacterias, toxinas, insectos, arácnidos y alérgenos. La epidermis también tiene un papel activo en la respuesta inmunológica corporal a estos factores externos. Antes que el sistema inmune pueda responder a estos factores externos, su presencia debe ser reconocida. El reconocimiento puede ocurrir en uno de dos niveles: sobre la superficie de la epidermis o en la dermis. Si la epidermis está intacta, parece más factible que el reconocimiento de un agente ambiental suceda en la epidermis. Para muchas respuestas inmunológicas, incluida la inducción de células T cooperadoras, los antígenos primeros deben ser procesados para la presentación a los linfocitos. Clásicamente, esto acontece mediante los macrófagos, los cuales expresan a los antígenos del complejo de histocompatibilidad principal (MHC) clase II, pero pueden intervenir otras células con la misma clase de antígenos. Puesto que los macrófagos están presentes en la dermis y normalmente no residen en la epidermis, esta función es cumplida por otras células.

La epidermis contiene dos células muy importantes del sistema inmune cutáneo que probablemente contribuyan a esta función: las células de Langerhans y el queratinocito (Scott, 2002).

Existen múltiples causas de alteraciones en la piel, entre ellas tenemos:

- Enfermedades bacterianas.
- Enfermedades micóticas.
- Enfermedades parasitarias.
- Enfermedades endócrinas.
- Enfermedades inmunológicas.
 - I. Trastornos de hipersensibilidad.
 - II Enfermedades autoinmunes.
- Enfermedades hereditarias.
- Enfermedades psicogénicas.
- Enfermedades físico-químicas.
- Enfermedades de la piel por desequilibrios nutricionales.
- Enfermedades neoplásicas.

(Álvarez, 1995; Álvarez, 2001; Navarro, 1992; Nolasco, 1996; Scott, 2002; Trigo, 1998).

ENFERMEDADES INMUNOLÓGICAS.

Las enfermedades inmunológicas consisten en un grupo de condiciones que abarca desde las alergias, hasta las enfermedades autoinmunes, en ambos casos existe una respuesta inmune anormal involucrada.

Las enfermedades autoinmunes son un grupo de enfermedades inmunológicas en las que el organismo desarrolla anticuerpos o linfocitos activados, que atacan y destruyen algunos de sus propios tejidos. Algunas de las enfermedades autoinmunes que tienen como órgano blanco a la piel son el lupus eritematoso sistémico, lupus eritematoso discoide, pénfigo (foliáceo, eritematoso, vegetante y vulgar) y el penfigoide ampuloso. Las enfermedades autoinmunes requieren un control con fármacos inmunosupresores de por vida (Álvarez, 2001; Brunner, 1999; Nelson, 2000; Scott, 2002; Tizard, 1998; Trigo, 1998).

En el caso del complejo pénfigo, éste se caracteriza en el plano histológico por acantólisis intraepidérmica que lleva a la formación de vesículas e inmunológicamente, por la presencia de un autoanticuerpo (anticuerpo pénfigo), ambos unidos en la piel y circulantes en el suero. Los antígenos del pénfigo son las proteínas llamadas desmogleína 1, 1A y 3A, presentes en la piel de mamíferos y aves y asociados con las áreas de membrana celular desmosomal y no desmosomal, a las que se unen los autoanticuerpos dando como resultado la acantólisis (Aguilar, 1995; Álvarez, 2001; Gross, 2006; Honda, 2004; Iwasaki, 1997; Merchant, 2003; Nesbitt, 2001; Olivry, 2006; Scott, 2002; Tizard, 1998).

La patogénesis postulada para la formación de la ampolla en el pénfigo consiste en: 1) unión del anticuerpo pénfigo con antígeno, 2) internalización del anticuerpo pénfigo y su fusión con los lisosomas intracelulares y 3) la resultante activación y liberación de una enzima proteolítica del queratinocito, que difunde dentro del espacio extracelular y convierte el plasminógeno en plasmina, la cual hidroliza las moléculas de adhesión. La resultante pérdida de la cohesión intercelular lleva a la acantólisis y formación de ampolla dentro de la epidermis (Aguilar, 1995; Álvarez, 2001; Gross, 2006; Merchant, 2003; Nesbitt, 2001; Scott, 2002; Wender, 1999).

La patogenia de las lesiones cutáneas en el lupus eritematoso sistémico es incierta. Cinco características del lupus eritematoso cutáneo abarcan: 1) fotosensibilidad, 2) daño de queratinocitos (asociados con linfocitos T y macrófagos contiguos), 3) infiltración linfocitocítica, 4) producción de autoanticuerpo y 5) depósitos de inmunocomplejos (Álvarez, 2001; Gross, 2006; Nesbitt, 2001; Scott, 2002; Wender, 1999).

DIAGNÓSTICO DE LAS DERMATOSIS INMUNOMEDIADAS.

El diagnóstico de estas dermatosis requiere la demostración de los cambios dermatopatológicos característicos y a nivel óptimo, de los autoanticuerpos, inmunocomplejos o mediadores del daño inmunológico. El establecimiento de estos criterios requiere de biopsia cutánea (Aguilar, 1995; Álvarez, 2001; Gross, 2006; Merchant, 2003; Nesbitt, 2001; Nolasco, 1999; Scott, 2002).

Los estudios empleados para detectar la presencia de autoanticuerpos o diversos inmunorreactores en las lesiones cutáneas incluyen la inmunofluorescencia e inmunohistoquímica. Dado que los colorantes como la fluoresceína y la peroxidasa pueden acoplarse a anticuerpos sin destruir su especificidad, el conjugado puede combinarse con el antígeno presente en un corte de tejido y visualizarse en el microscopio. De esta manera pueden demostrarse la distribución del antígeno en el tejido y dentro de las células. El método también puede emplearse para la detección de anticuerpos dirigidos contra antígenos conocidos, presentes en un corte de tejido. Las muestras para la prueba de inmunofluorescencia directa (ID) requiere fijación o remisión en fijador de Michel. Las muestras para la prueba de inmunoperoxidasa directa pueden fijarse en formol. La incidencia de resultados positivos en los procesos caninos varía de casi el 25 al 90% para la ID. Los resultados positivos se alcanzan con mayor regularidad mediante la técnica de inmunoperoxidasa. Con esta técnica, sin embargo, la incidencia de resultados positivos falsos es también mucho más elevada (Merchant, 2003; Nolasco, 1999; Roitt, 2003; Scott, 2002).

Los resultados de los estudios inmunopatológicos nunca se pueden interpretar de forma adecuada sin el auxilio de los datos histopatológicos. Por otra parte, los signos histopatológicos son bastante específicos para ser diagnósticos en la mayoría de las ocasiones (Nolasco, 1999; Scott, 2002).

COMPLEJO PÉNFIGO.

El complejo pénfigo es un grupo de enfermedades autoinmunes inusuales descrito en perros y gatos. Es un grupo de desórdenes caracterizado por el depósito de autoanticuerpos dentro de la epidermis, lo que causa que las células epidérmicas se separen unas de otras, creando espacios. Son desórdenes que van de vesiculoampollosos a pustulosos de la piel o membranas mucosas (Aguilar, 1995; Álvarez, 2001; Morgan, 1997; Nolasco, 1999; Olivry, 2006; Tizard, 1998).

Existen 4 tipos de pénfigo: vulgar (el más agresivo), vegetante (forma benigna del vulgar), foliáceo (el segundo más agresivo) y eritematoso (forma benigna del foliáceo). El patrón de distribución es similar para las cuatro formas, afectando: el puente nasal, cavidad oral, labios, periocular, orejas y miembros. En los perros, sólo el pénfigo vulgar ocasiona una vesícula intraepidérmica. Las otras formas de pénfigo son pústulas intraepidérmicas.

DIAGNÓSTICO.

En términos generales, las diversas formas de pénfigo tienen diferencias clínicas relativamente definidas. Ciertos rasgos diagnósticos, sin embargo, pueden ser aplicados a todo el conjunto. Los aspectos diagnósticos más importantes son la anamnesis, examen físico y datos histopatológicos. La detección del anticuerpo pénfigo mediante la ID o inmunoperoxidasa también puede ser de provecho.

La biopsia de piel puede ser diagnóstica o muy sugestiva de pénfigo. Son esenciales las vesículas, ampollas o pústulas intactas (Fig. 3) (Aguilar, 1995; Álvarez, 2001; Merchant, 2003; Morgan, 1997; Nolasco, 1996; Nolasco, 1999; Scott, 2002; Nesbitt, 2001; Werner, 1999; Willemse, 1999).

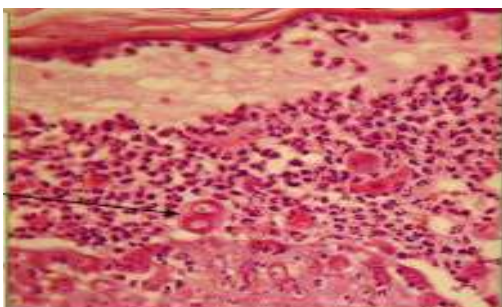


Figura 3. Pénfigo. (De Buen, 2008)

LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO.

Existen dos tipos de lupus eritematoso: sistémico y discoide. Los signos cutáneos son similares para las dos formas. Sin embargo, el lupus eritematoso sistémico (LES) es un desorden autoinmune polisistémico poco frecuente en perros, gatos y humanos.

La etiología del LES parece multifactorial, en la cual desempeñan un papel la predilección genética, la alteración inmunológica, la infección por virus, la modulación hormonal y de la luz UV. La hiperactividad de los linfocitos B genera una plétora de autoanticuerpos formados contra numerosos constituyentes corporales. El daño tisular en el LES parece causado por una reacción de hipersensibilidad tipo III. Los perros afectados tienen hipoactividad celular T supresora, bajos niveles séricos de timulina y porcentaje reducido de células T circulantes.

Las manifestaciones cutáneas del LES canino son en extremo diversas. Incluyen dermatosis seborreica, procesos vesiculoampollosos cutáneos o mucocutáneos, ulceración e hiperqueratosis de almohadillas plantares, piodermas bacterianas secundarias refractarias, paniculitis (lupus profundo) y dermatitis nasal. Las lesiones pueden ser multifocales o generalizadas y por lo común interesan cara, orejas y parte distal de las extremidades. Pueden exacerbarse por la exposición a la luz solar. El prurito es variable y la cicatrización común. Entre los signos sistémicos se encuentran: poliartritis, polimiositis, pericarditis, miocarditis, neumonía, linfadenopatía, esplenomegalia, convulsiones, polineuropatía, glomerulonefritis, fiebre, proteinuria y anemia hemolítica (Álvarez, 2001; Morgan, 1997; Nolasco, 1996; Scott, 2002; Nesbitt, 2001; Willemse, 1999).

DIAGNÓSTICO.

El diagnóstico definitivo del LES a menudo es uno de los desafíos más laboriosos en medicina. La prueba de células lupus eritematoso (LE) puede ser positiva hasta en el 60% de los pacientes, pero varía diariamente, es lábil a los esteroides y carece de sensibilidad y especificidad.

La prueba de anticuerpos antinucleares (AAN), que consiste en la detección de anticuerpos circulantes en el suero dirigidos contra los núcleos celulares, actualmente es considerada como el método serológico más específico y sensible para LES. Es positiva hasta en el 90% de los casos de LES activos (Foster, 2003; Nesbitt, G., 2001; Willemse, 1999).

Los cambios dermatohistopatológicos en el LES varían con el tipo de lesiones morfológicas macroscópicas y pueden carecer de especificidad (Figura 4). El hallazgo más característico es la dermatitis interfacial (hidrópica o liquenoide, o ambas) que puede interesar la vaina radicular externa folicular. Otras manifestaciones corrientes incluyen alteración vacuolar subepidérmica (“burbujas subepidérmicas”), espesamiento focal de la zona de la membrana basal y mucinosis dérmica. Presentaciones inusuales comprenden vesículas intrabasales a subepidérmicas, vasculitis leucocitoclástica y paniculitis del lupus eritematoso.

La ID o inmunohistoquímica revela la acumulación de inmunoglobulina o complemento, o ambos, en la zona de membrana basal, designada como “banda lupus” positiva, en el 50 al 90% de los pacientes. (Álvarez, 2001; Chabanne, (I) 1999; Chabanne, (II), 1999; Foster, 2003; Morgan, 1997; Nesbitt, 2001; Nolasco, 1996; Scott, 2002).

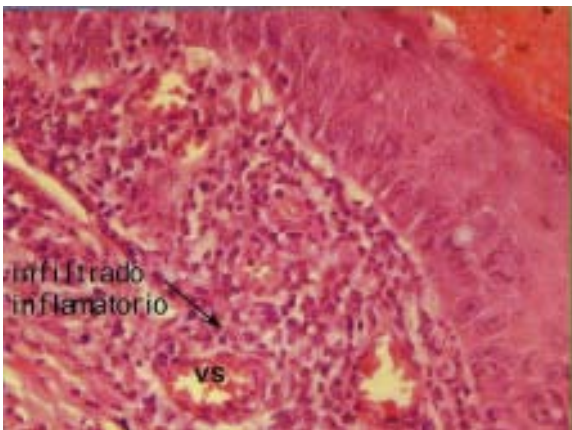


Figura 4. LED. (De Buen, 2008)

El veterinario debe apoyarse en el reconocimiento de enfermedad polisistémica, prueba de AAN positiva y hallazgos histo e inmunopatológicos confirmatorios para llegar a establecer un diagnóstico correcto.

HIPÓTESIS.

Existe relación entre el diagnóstico histopatológico y el inmunohistológico para la evaluación a nivel de laboratorio de los problemas inmunomediados en la piel de caninos.

OBJETIVO GENERAL.

Establecer el método de diagnóstico por inmunoperoxidasa para problemas de piel en caninos.

OBJETIVOS PARTICULARES:

1. Realizar el diagnóstico histopatológico de las lesiones en piel remitidas al laboratorio de diagnóstico.
2. Implementar una técnica de diagnóstico de anticuerpos anti-IgG por inmunoperoxidasa para los problemas de piel en caninos.
3. Establecer los parámetros morfohistológicos, inmunohistológicos y de la historia clínica que acerquen al diagnóstico definitivo.

JUSTIFICACIÓN.

En medicina veterinaria, existe muy poca información disponible acerca de la demografía de los trastornos cutáneos de perros y gatos. Se ha estimado que entre el 20 y 75% de los pequeños animales que se ven en la práctica promedio tienen problemas de piel como queja principal o concurrente (Grant, 1997; Nagata, 2000; Scott, 2002).

Los signos clínicos de numerosas enfermedades dermatológicas son similares, por lo que la etiología de la enfermedad de un paciente puede no ser evidente solamente con los resultados obtenidos durante la exploración clínica. Por lo general, una historia clínica completa proporciona indicios en cuanto a la causa del problema dermatológico, y permitirá al veterinario dar prioridad a las pruebas de laboratorio, tales como los raspados, improntas o biopsias, que exigen tiempo y con frecuencia son costosas, para confirmar el diagnóstico. Sólo tras obtener un diagnóstico se puede establecer un tratamiento lógico y emitir un pronóstico preciso (Álvarez, 2001; Grant, 1997; Mueller, 2001; Nolasco, 1996; Scott, 2002; Willemse, 1999).

MATERIAL Y MÉTODOS.

El presente trabajo se llevó a cabo en las instalaciones del laboratorio de diagnóstico veterinario DIVET, el cual se encuentra ubicado en Av. 20 de noviembre No 145, en San Sebastián Xhala.

OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS.

Para la realización del mismo, se consultaron los archivos con los que cuenta dicho laboratorio. El laboratorio cuenta con una base de datos impresa de todos los casos que le son remitidos, asimismo existe una base de datos electrónica en la cual se encuentran registrados todos los resultados de las muestras procesadas en el laboratorio. De igual forma, el laboratorio cuenta con un sitio especial para la conservación de los tejidos que recibe para la realización de pruebas posteriores en los casos que lo ameriten. En este mismo lugar se conservan las muestras que han sido incluidas en parafina. Para la selección de las muestras se realizó una búsqueda en la base de datos que cuenta con los resultados de las muestras procesadas y se seleccionaron aquellas cuyo diagnóstico histopatológico era sugerente de un proceso inmunomediado. Posteriormente, se obtuvieron las historias clínicas impresas de todos los casos sospechosos para finalmente proceder a la recuperación de los tejidos del archivo en los casos en los que el tamaño de la muestra lo permitía, o en su caso, para la recuperación del tejido ya incluido en la parafina en aquellos casos en los que por el tamaño de la muestra no fue posible obtener el tejido. Las muestras que se remitieron al laboratorio se fijaron en paraformaldehído al 10% o formalina amortiguada para posteriormente ser incluidas en parafina.

PROCESAMIENTO Y CONSERVACIÓN.

En los casos en los que se recuperó la muestra de tejido, éste fue incluido en parafina de la siguiente forma: para la deshidratación, primero se enjuagaron las muestras con agua. Posteriormente se colocaron en alcohol de 96° durante una hora a una temperatura de 55-60°C. A continuación se colocaron en alcohol absoluto por una hora a 55-60°C. El siguiente paso fue ponerlos en xileno durante una hora a 55-60°C. Finalmente las muestras se colocaron en parafina líquida por una hora a 55-60°C.

Una vez hecho esto las muestras se colocaron en cubos con la parafina líquida y se dejaron enfriar.

TÉCNICA HISTOPATOLÓGICA.

Se realizaron diferentes cortes del tejido de entre 4-6 micras con el microtomo (Lipshaw MFG), las cuales se colocaron en un baño con agua caliente y grenetina para posteriormente fijarse en un portaobjetos. Hecho esto se colocaron en un horno de calor para que se secaran perfectamente. Posteriormente a cada muestra se le realizó la tinción de Hematoxilina (Hycel)-Eosina (Hycel) (H-E) para corroborar el diagnóstico histopatológico de la siguiente forma:

1. Desparafinar las muestras en xilol por dos minutos tres veces.
2. Rehidratar los tejidos con 10 pases en alcohol absoluto, 10 pases en alcohol de 96°, 10 pases en alcohol de 80°, y 10 pases en agua destilada.
3. Hematoxilina por 4 minutos.
4. 10 pases en agua corriente.
5. 3 pases en alcohol ácido.
6. 10 pases en agua corriente.
7. 3 pases en agua amoniacal.
8. 10 pases más en agua corriente.
9. 10 pases en alcohol de 96°.
10. Eosina por 2 minutos.
11. Dos series de 10 pases en alcohol de 96°, una serie de 10 pases en alcohol absoluto y 10 pases en alcohol-xilol.
12. Dos series de 10 minutos en xilol.

Una vez que se procesaron las muestras histopatológicas, se procedió a estandarizar la técnica de inmunoperoxidasa para la detección del anticuerpo anti IgG canino, para ello se seleccionaron muestras que eran altamente sugestivas de enfermedad inmunomediada y se procedió a realizar la técnica como se describe a continuación:

TÉCNICA INMUNOHISTOQUÍMICA.

Se realizaron varios cortes de los tejidos incluidos previamente y se delimitaron en portaobjetos. La técnica fue la siguiente:

1. Desparafinar las muestras en xilol por un periodo de 6 minutos.
2. Baño con solución buffer tris (TBS) con un pH de 7.6 para su rehidratación por 5 minutos.
3. Incubar en cámara húmeda a 37° C con peróxido de hidrógeno (H₂O₂) al 0.6 % en metanol al 80 % durante 7 minutos para inhibir la peroxidasa endógena.
4. Lavar 3 veces con TBS a temperatura ambiente durante 5 minutos.
5. Incubar 30 minutos en cámara húmeda a 37° C con suero normal de conejo a una dilución 1:5.
6. Decantar el resto del suero y lavar las muestras con solución buffer (PBS).
7. Aplicar conjugado anti IgG canino peroxidado de la marca Serotec en diferentes diluciones desde 1:50, 1:100, 1:200, 1:400, 1:800 y 1:1600 e incubar durante 1 hora en cámara húmeda a 37°C.
8. Lavado con TBS.
9. Colocar diaminobenzidina (DAB) durante 20 minutos.
10. Lavar con agua destilada.
11. Contrastar con hematoxilina de Harrys (Hycel) por 15 segundos.
12. Lavar el exceso de colorante con agua destilada y posteriormente con agua corriente.
13. Colocar una gota de etanol al 70°, 80°, 90°, 96° por 30 segundos.
14. Colocar una gota de xilol por 30 segundos.
15. Colocar resina sintética (Sigma) y cubreobjetos (DAKO).
16. Observar al microscopio.

(Cortés, 2003).

Los criterios histopatológicos que se emplearon para categorizar cada uno de los casos se muestran en la tabla No 1:

TABLA 1. CRITERIOS HISTOPATOLÓGICOS.

	Características histopatológicas
Pénfigo Vulgar	Acantólisis suprabasilar con la resultante formación de hendiduras y vesículas. Las células basales epidérmicas se mantienen unidas a la zona de la membrana basal como una “hilera de lápidas”. La reacción inflamatoria dérmica puede ser escasa y perivascular, o prominente e intersticial a liquenoide.
Pénfigo Vegetante	Hiperplasia epidérmica papilomatosa, papilomatosis y microabscesos intraepidérmicos con predominio de eosinófilos y queratinocitos acantolíticos.
Pénfigo Foliáceo	Acantólisis intragranular o subcórnea, con la resultante formación de hendiduras y vesículas o pústulas. Dentro de las vesículas las células del estrato granuloso pueden estar adheridas al estrato córneo que lo recubre (células granulosas “colgantes”). Puede haber predominio de neutrófilos o eosinófilos dentro de las vesículas. Otros hallazgos: exocitosis eosinofílica, microabscesos en epidermis, compromiso de vaina radicular externa folicular.
Pénfigo Eritematoso	Similar a pénfigo foliáceo, excepto por la presencia frecuente de un infiltrado liquenoide de células mononucleares, células plasmáticas y neutrófilos, eosinófilos o ambos.
Lupus Eritematoso Sistémico	Dermatitis de interfase (hidrópica, liquenoide o ambas), puede comprometer vainas radicales externas de folículos pilosos. Puede haber apoptosis de células basales y suprabasales y en ocasiones éstas se asocian con satelitosis linfocítica. Puede haber alteración vacuolar subepidérmica, engrosamiento focal de la zona de la membrana basal y mucinosis dérmica, vesículas intrabasales a subepidérmicas, vasculitis leucoclastica y paniculitis del lupus eritematoso.
Lupus Eritematoso Discoide	Dermatitis de interfase (hidrópica, liquenoide o ambas), degeneración hidrópica focal de células basales, incontinencia pigmentaria, engrosamiento focal de la zona de la membrana basal, queratinocitos apoptóticos y acumulaciones marcadas de células mononucleares y plasmáticas alrededor de los vasos y apéndices dérmicos, mucinosis dérmica de grado variable.

(Gross, 2006; Merchant, 2003; Nesbitt, 2001; Scott, 2002; Wender, 1999).

RESULTADOS.

De la búsqueda en los archivos de resultados se obtuvieron los siguientes datos: en el año 2001 se recibieron 213 casos para histopatología, de los cuales 129 correspondieron a muestras de piel, y de las cuales 6 fueron sospechosas de un proceso inmunomediado. En el año 2002 se presentaron 292 casos de histopatología, y de estos 155 se remitieron por problemas en la piel, de los cuales 11 fueron sospechosos de enfermedad inmunomediada. Para el año 2003 el número de casos remitidos para histopatología fue de 274, y de estos 180 fueron por problemas de piel. El número de casos sospechosos en este año fue de 10. El año 2004 se recibieron 268 muestras para histopatología, 158 por enfermedad dermatológica, y de los que 11 resultaron sospechosos de procesos inmunomediados. En el año 2005 se presentaron 318 muestras para histopatología, 222 por afecciones en piel, y de estos 12 casos resultaron sospechosos. Para el año 2006 sólo se tomaron en cuenta las muestras que se habían recibido hasta el día 10 de marzo, y que correspondían a 80, de las cuales 44 fueron remitidas por problemas en piel. De estas, sólo 2 resultaron sospechosas.

Se obtuvo un total de 52 casos reportados como sospechosos o cuyo diagnóstico histopatológico correspondía con un proceso inmunomediado. Sin embargo, de este total de casos reportados, sólo pudo recuperarse un total de 36 muestras de tejido o cubos de parafina. Cabe mencionar que de las muestras de tejido recuperadas, algunas presentaban gran deterioro debido a que las condiciones de conservación no fueron las adecuadas, ya que algunas fueron remitidas al laboratorio en recipientes que no cerraban herméticamente y el conservador se derramó o por que la muestra de tejido era muy grande y el conservador no era suficiente para toda la muestra.

De las 36 muestras que se logró obtener, únicamente se pudo procesar un total de 24, ya que el resto presentó alteraciones durante el proceso que hicieron imposible la identificación de las estructuras a nivel microscópico. En algunas de ellas no fue posible hacer los cortes ya que se quebraba el tejido por el tiempo que pasaron sin conservador.

Las muestras que se utilizaron en el presente estudio se seleccionaron en base a los hallazgos histopatológicos encontrados al realizar la tinción de Hematoxilina-Eosina.

Los resultados histopatológicos de los teñidos con H-E se muestran en el apéndice 1.

Una vez que se tuvieron los resultados de la tinción H-E se procedió a realizar la técnica de inmunoperoxidasa, sin embargo, cuando se realizó la observación microscópica se detectó que la peroxidasa endógena no había sido inhibida completamente, por lo que se optó por aumentar el tiempo de incubación con el peróxido de hidrógeno hasta 15 minutos con lo cual se logró la inhibición total de las peroxidases endógenas. También se observó que se obtuvo marcaje positivo con las diluciones de conjugado anti IgG canino 1:50, 1:100, 1:200, 1:400, y que con la dilución 1:800 el marcaje era muy ligero. Con la dilución 1:1600 no se obtuvo marcaje. Las diluciones de conjugado anti IgG canino 1:50 y 1:100 mostraron un depósito abundante de diaminobenzidina (DAB) con lo cual las muestras se tornaron intensamente de color café. Por otro lado, la dilución 1:200 puso de manifiesto un marcaje nítido que permitía observar las características histopatológicas de manera clara. Por tal motivo, se decidió utilizar una dilución del conjugado anti IgG canino 1:200 ya que con ésta el marcaje se observó de manera adecuada. La dilución 1:400, aunque presentaba marcaje, no se observaba tan claramente. En el caso de la diaminobenzidina se observó que incubar las muestras durante 20 minutos propiciaba que los tejidos se tornaran de color café, por lo que se redujo el tiempo de incubación hasta 10 minutos con lo que se obtuvo un buen marcaje sin que las muestras de tejido se vieran afectadas. Por último, en el caso de algunas muestras se observó que conservaban agua después de las exposiciones en los alcoholes, debido a esto, el tiempo con el etanol a sus diferentes concentraciones se aumentó hasta un minuto para lograr extraer por completo el agua de las muestras de tejido. El tiempo con xilol fue también de un minuto para aclarar las muestras.

El total de muestras de tejido procesadas fue de 24, de estas, 23 fueron de caninos y 1 de un felino. En cuanto al sexo de los animales, 10 fueron de machos, incluyendo aquí al felino, y 7 fueron de hembras, y en 7 de los casos no se reportó el sexo del animal. Por otro lado, en lo que respecta a la edad de los ejemplares, se obtuvieron muestras de animales que iban desde 1 año hasta los 12 años, aunque la edad promedio de aparición para esta población fue de 4.6 años.

Las razas de las cuales se remitieron muestras fueron muy variadas, incluso de perros criollos, sin que existiera predominio de ninguna raza en especial, aun cuando se observaron varias muestras de la raza pastor alemán.

En lo que respecta a la frecuencia de presentación de cada enfermedad, se obtuvo que el pénfigo vulgar presentó 7 casos, de los cuales 5 fueron positivos a la técnica de inmunoperoxidasa, y 2 resultaron negativos (Figura 5).

El pénfigo vegetante mostró una presentación de 4 casos, 2 de los cuales fueron positivos a la inmunoperoxidasa, y 2 negativos (Figura 6).

Para el pénfigo foliáceo se obtuvieron 2 casos, mostrando ambos reacción positiva a la técnica (Figura 7).

El pénfigo eritematoso fue la enfermedad que más se diagnóstico histopatológicamente con un total de 8 casos, de los cuales 7 mostraron una reacción positiva y solamente en un caso se obtuvo una respuesta negativa (Figura 8).

En el caso de las muestras sospechosas de lupus eritematoso sistémico se presentaron 2 muestras, sin embargo, ambas muestras resultaron negativas a la prueba.

Solamente se presentó un caso sospechoso de lupus eritematoso discoide, el cual dio resultado positivo al marcaje (Figura 9).

Cabe mencionar que el marcaje que se observó se presentó en la mayoría de los casos en los espacios intercelulares de la epidermis, y únicamente dos de las muestras dieron un marcaje en la zona de la membrana basal. Esta información se resume en la tabla 2:

TABLA 2. RELACIÓN DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO Y MARCAJE IP.

Diagnóstico histopatológico	Caso	IP	Marcaje	Especie	Raza	Sexo	Años
Pénfigo Vulgar	V-182	+	E	Canino	ND	ND	ND
	1195	+	E	Canino	Pastor alemán	M	8
	5540	+	MB	Canino	Criollo	M	1
	2523	-		Canino	Bull-terrier	M	1
	3704	-		Canino	Doberman	M	3
	1506	+	MB	Canino	Bulldog ingles	H	ND
	537	+	E	Canino	ND	ND	ND
Pénfigo Vegetante	3080	+	E	Canino	Fila brasileño.	H	4
	5344	+	E	Canino	Bull-terrier	M	3
	V-368	-		Canino	ND	ND	ND
	1018	-		Canino	Beagle	ND	4
Pénfigo Foliáceo	2975	+	E	Canino	Poodle	H	4
	V-116	+	E	Canino	ND	ND	ND
Pénfigo eritematoso	6432	+	E	Canino	Criollo	H	4
	1670	+	E	Canino	Pastor alemán	H	3
	2349	+	E	Canino	Pastor alemán	H	ND
	2663	+	E	Canino	ND	ND	ND
	V-13	+	E	Canino	Rottweiler	H	4
	2672	+	E	Canino	Criollo	M	8
	2436	+	E	Canino	Cocker spaniel	M	8
	V-817	-		Canino	ND	ND	ND
Lupus eritematoso sistémico	3714	-		Felino	Mexicano doméstico	M	5
	3799	-		Canino	Schnauzer	M	12
Lupus eritematoso discoide	4991	+	E	Canino	Schnauzer	M	3

Tabla No 2. E: Epidermis. MB: Membrana Basal H: Hembra M: Macho N.D.: No Disponible

TABLA 3. CONCORDANCIA DE LAS PRUEBAS DE HP E IP.

	POSITIVO	NEGATIVO
HISTOPATOLOGÍA	24	0
INMUNOPEROXIDASA	17	7
PORCENTAJE	70.8	29.2

DISCUSIÓN.

A pesar de que los problemas dermatológicos son una de las principales causa de consulta para el médico veterinario, su diagnóstico no es tan sencillo. Una de las razones principales por las que el diagnóstico de estos fenómenos es tan complicado se debe a que, a pesar de la gran variedad de agresiones a las que se enfrenta, la piel tiene relativamente pocas maneras de responder, de este modo muchas dermatosis parecen idénticas. Por este motivo los signos clínicos de numerosas enfermedades dermatológicas son similares, por lo que la etiología de una enfermedad puede no ser evidente si sólo se interpretan los resultados obtenidos durante la exploración clínica (Harvey, 1999; Mueller, 2001; Werner, 1999). Una razón más por la que es difícil establecer un diagnóstico certero con estas patologías es el costo elevado de las pruebas de laboratorio para llegar a él, ya que para obtener un diagnóstico definitivo, se requiere la demostración de los cambios dermatopatológicos característicos y a nivel óptimo, de los autoanticuerpos, inmunocomplejos o mediadores del daño inmunológico. (Scott, 2002). Debido a esto, una gran parte de las afecciones de éste tipo no son adecuadamente diagnosticadas y por consiguiente, la terapéutica en muchos de los casos llega a ser infructuosa y puede resultar frustrante tanto para el propietario como para el médico de pequeñas especies.

Tomando en cuenta los datos anteriores, se decidió implementar una prueba inmunohistoquímica que ayudara a corroborar el diagnóstico en los casos en los que el diagnóstico histopatológico era sugestivo de una enfermedad inmunomediada. Entre las pruebas que existen para el diagnóstico de este tipo de afecciones se encuentran la inmunofluorescencia y la inmunohistoquímica (inmunoperoxidasa). El depósito de colorantes específicos en determinadas regiones sea el resultado de propiedades químicas o físicas propias del tejido, constituye la base de la histoquímica (Gaete, 1996). Esta técnica es útil para microscopia de luz y electrónica, para identificar y localizar sustancias potencialmente antigénicas. El extracto purificado de la sustancia deseada se prepara e inyecta como un antígeno en otro animal. Éste desarrolla una respuesta inmunitaria y anticuerpos. Los anticuerpos se aíslan y purifican. Un marcador como un colorante fluorescente o una enzima (peroxidasa) se unen con el anticuerpo.

La observación del depósito de complejos antígeno–anticuerpo confirma la actividad de la peroxidasa (Gaete, 1996).

Como ya se mencionó, para la realización de este estudio, se utilizaron los archivos y los tejidos con los que cuenta el laboratorio de diagnóstico veterinario “DIVET”, sin embargo, se encontró que existen algunas fallas en el sistema de identificación de las muestras, ya que en algunos casos las boletas de registro no son llenadas adecuadamente y por lo tanto faltan datos de identificación que podrían ser útiles para el diagnóstico como son la raza, edad y sexo de los animales. En otros casos no fue posible recuperar las muestras de tejido remitidas o en su defecto, los cubos de parafina con las muestras ya procesadas por que se pierden las etiquetas de identificación que son colocadas en los recipientes de las muestras. También se detectaron algunas fallas en el almacenamiento de las muestras ya que no existe un orden definido de colocación de las mismas y en algunos casos los recipientes que las contienen pierden el conservador ya que no cierran herméticamente y éste se pierde con el manejo y el almacenaje. Cabe mencionar que en algunas ocasiones las muestras no pueden ser conservadas adecuadamente ya que existe un desconocimiento por parte de los médicos veterinario de cómo deben ser tomadas, conservadas y remitidas, ya que en algunos casos se envían sin la historia clínica debidamente anotada o le faltan datos importantes. También se presentó el caso de que algunas fueran remitidas en frascos utilizando alcohol como conservador, o sin colocar la cantidad suficiente de formol para lograr fijar completamente las muestras. Algunas de las muestras que presentaron estas situaciones sufrieron procesos de alteración durante el proceso o hacían imposible la identificación de las estructuras de los tejidos, por lo cual tuvieron que ser eliminadas de este trabajo.

Otro problema fue que ya dentro del laboratorio no existe una identificación detallada de las muestras, lo que no permite que se sepa exactamente de que año es cada una. En los casos en los que sucedió esto, fue necesario procesar las muestras en las que faltaban datos para verificar cual era la muestra que debíamos trabajar.

En este estudio, se optó por desarrollar la técnica de inmunoperoxidasa porque ofrece algunas ventajas con respecto a la inmunofluorescencia, tales como:

1. Es un método muy sensible.
 2. Los resultados positivos se alcanzan con mayor regularidad.
 3. Pueden utilizarse tejidos fijados en formalina.
 4. La inclusión en parafina conserva detalles estructurales y proporciona características morfológicas similares.
 5. Las pruebas con inmunoperoxidasa proveen un registro más o menos permanente.
- (Aguilar, 1995; Brunner, 1999; Scott, 2002; Wender, 1999).

En general, los autores coinciden en que este tipo de afecciones en perros y gatos representan un porcentaje bastante bajo de todos los trastornos cutáneos. Una clínica universitaria estimó que el complejo pénfigo representa casi el 0.6% de los trastornos cutáneos en caninos y felinos. Por su parte, el lupus eritematoso discoide es la segunda dermatitis inmunomediada más común en el perro, aunque no se observa con regularidad. El lupus eritematoso sistémico es más bien infrecuente en perros y gatos. (Foster, 2003; Scott, 2002).

Enumerando estas afecciones por su presentación en los animales se tiene que el pénfigo foliáceo es la enfermedad autoinmunitaria más común en la piel del perro (Honda, 2004; Kummel, 1999, Nesbitt, 2001; Olivry, 2006; Scott, 2002; Wender, 1999). En nuestra población este padecimiento tuvo una frecuencia baja con sólo 2 casos, que resultaron positivos al marcaje. La segunda afección en importancia que se reporta en la literatura es el lupus eritematoso discoide (Foster, 2003; Scott, 2002), no obstante, en la población estudiada sólo se presentó un caso. El pénfigo eritematoso es la tercera enfermedad autoinmunitaria de la piel más común en perros (Nesbitt, 2001), sin embargo, en los resultados de esta población fue el pénfigo eritematoso la enfermedad que más se presentó con un total de 8 casos presuntivos, y de los cuales 7 presentaron un marcaje positivo a la técnica. El pénfigo vulgar se considera la segunda forma más rara del complejo (Nesbitt, 2001; Scott, 2002), pero en este estudio se presentaron 7 casos sospechosos, de los cuales 5 resultaron positivos al marcaje.

Cabe mencionar que 2 de estos resultados positivos se observaron en la zona de la membrana basal, lo cual no coincide con lo mencionado en la bibliografía, ya que lo reportado en los estudios inmunohistopatológicos es que pénfigo vulgar no presenta depósitos de inmunoglobulinas en la zona de la membrana basal como sí los presenta pénfigo eritematoso (Merchant, 2003; Kummel, 1999; Scott, 2002), por lo que se puede presumir que son resultados falsos positivos. El pénfigo vegetante es una enfermedad extremadamente rara y se considera la forma menos habitual (Kummel, 1999, Nesbitt, 2001, Scott, 2002). En este estudio se presentaron 4 casos sospechosos, y sólo 2 dieron resultado positivo a la inmunoperoxidasa. Lupus eritematoso sistémico es un desorden infrecuente en perros y gatos, su incidencia se estima en un 0.03% de la población canina (Chabanne, (I) 1999; Foster, 2003; Nesbitt, 2001; Scott, 2002). De las muestras observadas en este estudio, únicamente 2 presentaron características histológicas sugerentes de este padecimiento, sin embargo, ambas muestras resultaron negativas al diagnóstico inmunohistoquímico.

Debido a que el total de la población de muestras es relativamente bajo, no es factible observar predisposición racial, de sexo o edad en los animales. La literatura reporta que, en general, no existe predisposición de edad o de género. Sin embargo, el pénfigo foliáceo tiene predisposición por las razas Akita, Chow-chow, Dachshund, Collie barbudo, Terranova, Doberman pinscher y Spitz. El pénfigo eritematoso presenta predilección por las razas Collie, Pastor de Shetland y Pastor alemán. El lupus eritematoso sistémico presenta predisposición por las razas Collie, Pastor de Shetland, Pastor alemán, Poodle y Spitz. La variedad discoide del lupus eritematoso presenta una ligera predisposición por las hembras, y por las razas Collie, Pastor alemán, Pastor de Shetland, Husky siberiano y Springer spaniel (Chabanne, (I) 1999; Foster, 2003; Wender, 1999).

Los resultados obtenidos en este estudio ponen de manifiesto que existe una relación entre el diagnóstico histopatológico y el diagnóstico por medio de la prueba de inmunoperoxidasa para estas afecciones, debido a que, como se muestra en la tabla número 2, la histopatología realizada por el patólogo del laboratorio corresponde con el diagnóstico realizado en nuestro estudio por la prueba de inmunoperoxidasa en 70.8 % de los casos, que corresponde a 17 de 24 muestras que se procesaron.

En el resto de las muestras en las que no se obtuvo marcaje, esto puede deberse a la técnica de manipulación de las muestras, a la selección de los sustratos utilizados o al método de manipulación de los sustrato.

Debido a que las muestras fueron seleccionadas en base a un diagnóstico histopatológico positivo a una enfermedad inmunomediada y, por tal motivo, no se trabajaron muestras negativas, no es posible realizar el cálculo de especificidad y sensibilidad de la prueba.

CONCLUSIONES.

- En el 70.8 % de los casos hay concordancia entre el diagnóstico histopatológico y el diagnóstico por medio de inmunoperoxidasa.
- Existe una elevada relación entre el marcaje a nivel de epidermis y el problema de pénfigo eritematoso, ya que 7 de los 8 casos dieron positivo al marcaje.
- El pénfigo eritematoso fue la afección inmunomediada que más se presentó en esta población.
- No hay una aparente predilección por raza, sexo o edad para estas enfermedades.
- Existe un mal manejo en el archivo de las muestras.
- Existe desconocimiento por parte de algunos MVZs en cuanto a la toma y envío de las muestras al laboratorio de diagnóstico.
- Hay un llenado inadecuado de las historias clínicas por parte de los MVZs.

PROPUESTAS.

- Siempre que se sospeche clínicamente de alguna alteración de tipo inmunomediada sugerir al MVZ un estudio inmunohistopatológico.
- Para la obtención de biopsias, elegir las lesiones más recientes para evitar el riesgo de diagnósticos erróneos por infecciones secundarias.
- De ser posible, realizar el estudio lo más pronto posible para evitar el deterioro de las muestras por una mala conservación.
- Orientar a los MVZs sobre la forma correcta de recolección, fijación y envío de las muestras.
- Para la obtención de las muestras, evitar en la medida de lo posible la depilación de la zona afectada. Una opción sería depilar la zona aledaña a la lesión, pero no directamente sobre ésta.
- Desarrollar una mejor metodología de almacenaje y archivo de las muestras en el laboratorio que facilite la ubicación de las mismas.
- Implementar una base de datos electrónica con código de barras para la identificación de las muestras.

APÉNDICE 1.

CASO V-13.

Descripción microscópica: En los cortes examinados se observa un tejido epitelial adelgazado y con pérdida de continuidad en algunas regiones y salida de eritrocitos (costras). La epidermis presenta una severa melanosis y en algunas zonas que se encuentran cercanas a las úlceras, se identifica una pérdida de continuidad de la basal con un discreto infiltrado de linfocitos. Hacia la dermis hay un infiltrado de linfocitos cercano a las basales incluyendo zonas de separación cercanas a la unión con la epidermis. Las lesiones se ubican hacia las glándulas del tejido epidérmico y corresponden con reacciones severas de tipo linfoplasmocitario.

Diagnóstico: Pénfigo eritematoso.

CASO V-116.

Descripción microscópica: En los cortes examinados se observa un fragmento de piel sobre cuyo epitelio presenta moderada proliferación de colágena. Existe acantosis en el estrato granuloso, y más significativamente en los estratos lúcido y córneo. Existen zonas en las que se pierde la cohesión celular y se forman vesículas que contienen dentro células de tipo linfoplasmocitario en el estrato lúcido. No existe pérdida de la membrana basal. Hay una proliferación de tejido conectivo en la dermis y un escaso infiltrado de linfocitos. Los folículos pilosos presentan condiciones normales.

Diagnóstico: Pénfigo foliáceo.

CASO V-182.

Descripción microscópica: Se revisan varios fragmentos de piel cuya epidermis muestra hiperplasia, hiperqueratosis, moderada melanosis y acantosis severa. En la dermis se observa una proliferación de colágeno y fibrocitos, encontrándose un severo infiltrado constituido por linfocitos y muy escasos neutrófilos, así como pequeños cúmulos de melanina. Profundamente al corte sólo se aprecia material de tipo fibroso.

Dermatitis proliferativa focal crónica.

Diagnóstico: Pénfigo vulgaris.

CASO V-368.

Descripción microscópica: Se revisan varios cortes de piel donde se identifica una epidermis engrosada con leve hiperqueratosis y melanosis moderada.

En la dermis se identifica una proliferación de tejido conectivo, escasos folículos pilosos, con leve hiperplasia y un severo infiltrado mononuclear, sobre todo en el estrato basal.

Diagnóstico: Lupus eritematoso.

CASO 537.

Descripción microscópica: Se observa fragmento de piel que presenta a lo largo de toda la membrana basal una pérdida de la cohesión celular, acantosis, llegando en algunos casos a formarse pequeñas vesículas. Existen algunas zonas en las que la pérdida de la cohesión se presenta en todos los estratos celulares. En algunas pequeñas zonas se aprecia pérdida de la continuidad en la membrana basal. Debajo de la membrana basal se aprecia un moderado infiltrado de linfocitos, los cuales infiltran en algunas zonas hacia la epidermis.

Diagnóstico: Pénfigo vulgaris.

CASO V-817

Descripción microscópica: Se observa fragmento de piel que presenta sobre el epitelio zonas en las que se observa una elevada producción de colágena. Existe una zona entre los estratos granuloso, lúcido y córneo en la que se presenta una vesícula y dentro de ella se aprecian algunos polimorfonucleares. Debajo de la membrana basal existe un gran infiltrado de polimorfonucleares y linfocitos. Este infiltrado también se observa alrededor de los folículos pilosos, pero ni en la membrana basal ni en los folículos el infiltrado está sobre el epitelio.

Diagnóstico: Pénfigo eritematoso.

CASO 1018.

Descripción microscópica: En los cortes examinados se identifica una epidermis que tiene hiperplasia de la capa intermedia y disminución de la capa superficial queratinizada. En la dermis se identifica una infiltración por linfocitos en forma abundante, escasos neutrófilos, moderados eritrocitos y moderados histiocitos.

Estas células están cercanas a la unión de la basal, sin embargo llegan a infiltrar hacia la dermis. Las células inflamatorias conforman estructuras asociadas a destrucción de membrana basal sin aparente infiltrado hacia la epidermis. En la dermis se observa además proliferación de tejido conjuntivo fibroso; en todas las áreas donde se encuentran zonas epiteliales se puede identificar el mismo tipo de infiltrado y lesión sobre la capa basal.

Diagnóstico: Pénfigo vegetante.

CASO 1195.

Descripción microscópica: Se revisan varios cortes de piel que presentan epidermis con hiperqueratosis y acantosis leve.

En la dermis se observa una severa proliferación de colágena y fibrositos encontrándose algunas glándulas con un severo infiltrado constituido por linfocitos e histiocitos.

Diagnóstico: Pénfigo vulgaris.

CASO 1506.

Descripción microscópica: Se revisan varios cortes histológicos donde se identifica una epidermis con leve hiperqueratosis y grandes zonas de hemorragia. En la dermis se encuentra moderada acantosis y un discreto edema subdérmico, además se identifican escasas glándulas sebáceas, y moderados folículos pilosos en los cuales se observa un severo infiltrado mixto mononuclear y polimorfonuclear entremezclado con abundantes fibras de colágena en la capa basal e hipodermis.

Diagnóstico: Compatible con pénfigo, a descartar vulgaris/vegetante.

CASO 1670.

Descripción microscópica: En los cortes estudiados se pueden identificar 2 fragmentos de piel que contienen básicamente el mismo tipo de lesión. En la epidermis se identifica acantosis con hiperplasia de la capa intermedia y en ocasiones sobre la superficie un infiltrado de linfocitos y plasmocitos. En el otro corte existe un infiltrado de linfocitos y plasmocitos con muy escasos neutrófilos dentro de la capa de epidermis. Hacia la dermis hay una proliferación de tejido conectivo que contiene abundante colágena e inmerso en la cual se encuentran abundantes linfocitos, moderados histiocitos y escasos neutrófilos. Hay una irrigación abundante con una hemorragia severa en toda el área.

Las basales se ven conservadas, sin embargo hay un inicio de infiltración hacia la epidermis por linfocitos.

Diagnóstico: Pénfigo Foliáceo.

CASO 2349.

Descripción microscópica: Se revisan varios cortes histológicos de la piel donde se aprecia una epidermis engrosada con leve hiperqueratosis, acantosis y melanosis moderada debajo de la cual se aprecia un infiltrado plasmocitario predominantemente mononuclear, en algunas zonas el infiltrado es tan severo que la epidermis se destruye por completo provocando zonas de úlcera.

Diagnóstico: Pénfigo eritematoso.

CASO 2436.

Descripción microscópica: En los cortes examinados se observa un fragmento de piel cuya epidermis presenta una hiperplasia de todas sus capas siendo más notoria la capa queratinizada y la basal.

Hacia la dermis hay una proliferación de colágena y un infiltrado de linfocitos y plasmocitos en cantidad abundante, y moderados neutrófilos, y muy escasos macrófagos. Este infiltrado tiene tendencia a ubicarse cerca de la epidermis y ocasionalmente en forma focal hacia la dermis.

La capa parabasal presenta una leve vascularización y acantosis y se observaron algunos macrófagos conteniendo material fagocitado.

Diagnóstico: Pénfigo eritematoso.

CASO 2523.

Descripción microscópica: Los hallazgos histológicos muestran piel que presenta en la epidermis acantosis moderada y melanosis leve. En la dermis se aprecia una proliferación de colágena y tejido conectivo fibroso donde se ven inmersos focos de infiltrado mixto polimorfonuclear y mononuclear. El tejido se encuentra severamente irrigado y con zonas de hemorragia.

Diagnóstico: Proceso inflamatorio subagudo confinado a dermis.

Comentario: Pénfigo vulgaris.

CASO 2663.

Descripción microscópica: Se revisa biopsia de piel que presenta una epidermis ligeramente engrosada con hiperqueratosis ortoqueratótica, acantosis y leve melanosis.

En la dermis se identifica una proliferación de tejido conectivo laxo sobre el cual se identifica un severo infiltrado mononuclear y polimorfonuclear.

La lesión se encuentra severamente irrigado y con zonas de hemorragia hasta los límites de la sección quirúrgica.

Diagnóstico: Pénfigo eritematoso.

CASO 2672.

Descripción microscópica: En los cortes examinados se observa un tejido epitelial adelgazada y con pérdida de continuidad en algunas regiones y salida de eritrocitos (costras). La epidermis presenta una severa melanosis y en algunas zonas que se encuentran cercanas a las úlceras, se identifica una pérdida de continuidad de la basal con un discreto infiltrado de linfocitos. Hacia la dermis hay un infiltrado de linfocitos cercano a las basales incluyendo zonas de separación cercanas a la unión con la epidermis. Las lesiones se ubican hacia las glándulas del tejido epidérmico y corresponden con reacciones severas de tipo linfoplasmocitario.

Diagnóstico: Pénfigo eritematoso.

CASO 2975.

Descripción microscópica: En los cortes examinados se identifica un fragmento de piel que contiene una epidermis la cual se encuentra en una parte normal, posteriormente comienza a adelgazarse y finalmente presenta una lesión con microabscesos conformados de células linfocíticas de tipo plasmocitos y linfocitos maduros así como polimorfonucleares conformándose en un 50% de estos últimos. Esta lesión destruye la capa intermedia y superficial así como invade hacia la capa parabasal.

No hay evidencias de infiltrado en la dermis que demuestre reacción contra la basal o la parabasal.

Diagnóstico: Pénfigo foliáceo.

CASO 3080.

Descripción microscópica: se observa un corte de piel en cuya epidermis hay leve proliferación de la basal con severa acantosis e infiltrado de pequeños cuerpos ovalados y con melanosis.

En la unión dérmico epidérmica hay una capa delgada de tejido fibrocítico y fibroblástico, con cierto infiltrado de linfocitos, debajo de la cual se encuentra una severa proliferación de colágena inmersa en la cual existen focos de inflamación proliferativa y áreas de necrosis y detritus celulares.

Dermatitis necrótica proliferativa multifocal.

Diagnóstico: Pénfigo vegetante.

CASO 3704.

Descripción microscópica: En los cortes examinados se observa tejido epitelial cuya epidermis se encuentra perdida en una zona. En la dermis de esa zona y en todo el tejido en forma difusa hay un infiltrado constituido en un 60% de linfocitos y de plasmocitos, 30% de neutrófilos, y 10% de macrófagos. El infiltrado tiende a ubicarse cerca de las basales y alrededor de los folículos pilosos y de las glándulas.

Diagnóstico: Pénfigo vulgaris.

CASO 3714.

Descripción microscópica: Se examina un corte de piel cuya epidermis tiene una severa destrucción y desorganización de la basal, en la dermis se observa una proliferación de colágena y algunos fibrositos, un infiltrado linfocitario con escasos macrófagos y neutrófilos que se asocia a la basal y que tiene zonas de degeneración y necrosis de la interfase. En el resto de la dermis hay zonas de hemorragia en la profundidad.

La irrigación es alta en algunas zonas de hemorragia.

Epidermitis linfocitaria difusa crónica.

Diagnóstico: Lupus eritematoso sistémico.

CASO 3799.

Descripción microscópica: se observa un fragmento de piel cuya epidermis presenta varias zonas de ulceración.

En la unión epidermis-dermis se aprecia un severo infiltrado de neutrófilos con algunos linfocitos y neovascularización, con las células de la basal perdidas o en picnosis. El infiltrado inflamatorio llega hasta la dermis formando abscesos y afectando basales.

Dermatitis ulcerativa hemorrágica severa.

Diagnóstico: Lupus eritematoso sistémico.

CASO 4991.

Descripción microscópica: En los cortes examinados se encuentra piel cuya epidermis está adelgazada y presenta melanosis severa.

En la dermis hay proliferación de tejido conjuntivo fibroso, así como un infiltrado focal con abundantes células plasmáticas, moderados linfocitos reactivos. Dicho infiltrado se ubica hacia los folículos pilosos y glándulas.

Foliculitis linfoplasmocítica crónica.

Diagnóstico: Lupus eritematoso discoide.

CASO 5344.

Descripción microscópica: En los cortes examinados se identifica piel cuya epidermis tiene hiperplasia de todas sus capas, así como una extensa área ulcerada.

En la dermis hay proliferación de colágena con un infiltrado abundante de linfocitos, escasos neutrófilos y extensas áreas de melanosis. Aparentemente no hay lesión en las basales.

Paraqueratosis cutánea crónica.

Dermatitis linfocitaria crónica.

Diagnóstico: Pénfigo vegetante.

CASO 5540.

Descripción microscópica: En los cortes examinados se identifica piel cuya epidermis se encuentra adelgazada en sus capas externas y con ligera melanosis. En la dermis existe un infiltrado muy severo de linfocitos, monocitos e histiocitos, este infiltrado se localiza cerca de las basales pero sin afectarlas, existe abundante colágena y fibrositos, los cuales se distribuyen dentro de todo el tejido y se intercalan entre las células linfoplasmocitarias.

Hay una región entre la unión epidermis-dermis que predomina la fibra de colágena, el infiltrado corresponde hasta el interior del tejido.

Diagnóstico: Pénfigo vulgaris.

CASO 6432.

Descripción microscópica: En los cortes examinados se identifica el mismo tipo de lesión, aunque corresponden a zonas diferentes de la piel. La epidermis se encuentra engrosada por hiperplasia de todas sus capas incluyendo el estrato queratinizado, hacia la dermis y en la unión dermo epidermis es posible identificar un cambio del aspecto conteniendo una zona lúcida durante todo el trayecto que es mucho más aparente en las zonas lesionadas y se disminuye hasta no observarse en la región sana. Esta área está infiltrada por células de tipo linfoplasmocitario en forma abundante con escasos neutrófilos y muy escasos eosinófilos, así mismo es posible notar algunos macrófagos, todas estas células se encuentran en forma reactiva. Las células aunque infiltran hacia la profundidad y hacia la epidermis no parecen destruir la membrana basal. En la epidermis y en la unión epidérmico dérmica es posible identificar focos de destrucción y licuefacción del material antes descrito. Así mismo, se observan zonas de falta celular a nivel de epidermis conformando pequeñas vesículas rodeadas de una estructura de material proteináceo y algo de queratina.

La lesión activa se constituye así mismo por un proceso inflamatorio supurativo secundario que siempre es dominada por el proceso de tipo proliferativo, así mismo la infiltración del proceso proliferativo ubica algunas glándulas cercanas al sitio de la lesión manteniéndose los folículos pilosos aparentemente de características normales. La irrigación es moderada principalmente en la interfase de la lesión e incluso se pueden identificar algunos vasos sanguíneos con hemorragia que llega a abarcar hasta la epidermis y la unión dérmico epidérmica. No parece haber lesiones endoteliales severas.

Diagnóstico:

Pénfigo eritematoso.

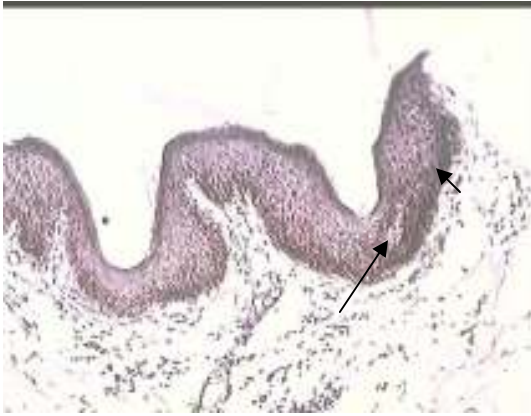


Figura 5. Piel, canídeo.
Flecha: Vesícula intraepitelial.
Flecha corta: Marcaje con IP.

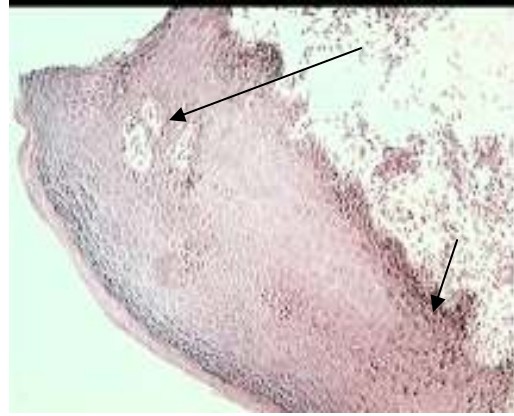


Figura 6. Piel, canídeo.
Flecha: Pústula.
Flecha corta: Marcaje con IP.



Figura 7. Piel, canídeo.
Flecha: Pústula.



Figura 8. Piel, canídeo.
Flecha: Vesícula.
Flecha corta: Marcaje con IP:



Figura 9. Piel, canídeo.
Flecha: Marcaje con IP.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Aguilar, J.; Bravo, J. y Constantino, F. 1995. Pénfigo canino. En: Revista AMMVEPE. No. 33, 391-395.
2. Álvarez, F. 1995. Dermatología en pequeñas especies. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios en Pequeñas Especies del Norte, A.C. Distrito Federal, México.
3. Álvarez, F. y Álvarez, F. 2001. Dermatología en perros y gatos. Jaiser Editores. D.F., México.
4. Banks, W. 1996. Histología veterinaria aplicada. Manual moderno. D.F., México.
5. Bautista, R. 1995. Inmunopatología. En: Revista AMMVEPE. No. 32. 362-370.
6. Bouhanna, L. 1999. Pelo y dinámica capilar en los carnívoros domésticos: técnicas de apreciación (fototricograma y tractiofototricograma). En: 7 días en la vida de un veterinario. No 31. 3er año. México.
7. Brunner, C. 1999. Autoinmunidad. En: Kirk. Terapéutica veterinaria de pequeños animales XII. Mc Graw Hill-Interamericana. D.F., México.
8. Chabanne, L., Fournel, C., Monier, J., y Rigal, D. 1999. Canine systemic lupus erythematosus. Part I. Clinical and biologic aspects. Compendium on continuing education for the practicing veterinarian. 21:2 135-141.
9. Chabanne, L., Fournel, C., Monier, J., y Rigal, D. 1999. Canine systemic lupus erythematosus. Part II. Diagnosis and treatment. Compendium on continuing education for the practicing veterinarian. 21:5 402-410.
10. Cortés, N. 2003. Identificación de linfocitos afectados durante la infección experimental en el conejo por *E. coli* enterohemorrágica. Tesis. FES-Cuautitlán. UNAM. México.
11. Day, M. 1999. Atlas en color de enfermedades inmunomediadas del perro y el gato: Cuadros clínicos, diagnóstico y tratamiento. GRASS Ediciones. México.
12. De Buen, N., Guzmán, M., Ordóñez, C., y Chávez, G. 2008. Atlas de dermatología en perros y gatos. Intermédica. Buenos Aires, Argentina.

13. Foster, A. 2003. Blistering and erosive immune-mediated skin diseases. En: BSAVA Manual of Small Animal Dermatology. Second edition. Grafos. Barcelona, España.
14. Gaete, C. 1996. Manual de técnicas histológicas e histopatológicas para MVZ. Tesis. FES-Cuautitlán. UNAM. México.
15. Grant, D. 1997. Enfermedades de la piel en perros y gatos. Mc Graw Hill-Intermédica. D.F., México.
16. Gross, T., Ihrke, P., Walder, E. y Affolter, V. 2006. Skin diseases of the dog and cat. Second edition. Blackwell Publishing. Denmark.
17. Harvey, P., Harvey, R. y Mason, I. 1999. Manual de dermatología en pequeños animales. Ediciones S. Barcelona, España.
18. Heaton, P., Devlin, P., Blount, D. y Pritchard, D. 2002. Envejecimiento y sistema inmune. En: Waltham Focus. Vol. 12. No. 1. Inglaterra.
19. Honda, R., Nishifuji, K., Olivry, T., White, S., Momoi, Y. e Iwasaki, T. 2004. Detection of circulating autoantibodies using living keratinocyte staining on MCA-B1 method in dogs whit pemphigus foliaceus. Research in Veterinary Science. 77. 105-113.
20. Iwasaki, T., Shimizu, M., Obata, H., Isasi, M., Yanai, T., Kitagawa, H. y Sasaki, Y. 1997. Detection of canine pemphigus foliaceus autoantigen by immunoblotting. Veterinary Immunology and immunopathology. 59: 1-10.
21. Junqueira, L., y Carneiro, J. 2002. Histología básica. 3ª edición. Masson. Barcelona, España.
22. Kummel, B. 1999. Tratamiento médico del pénfigo-penfigoide canino. En: Kirk. Terapéutica veterinaria de pequeños animales XII. Mc Graw Hill-Interamericana. D.F., México.
23. Lloyd, D., y Marsh, K. 1999. Optimización de la condición de la piel y el pelo en el perro. En: Waltham Focus. Vol. 9 No. 2. Inglaterra.
24. Merchant, S. 2003. Pemphigus. En: BSAVA Manual of Small Animal Dermatology. Second edition. Grafos. Barcelona, España.
25. Mueller, R. 2001. Dermatología práctica en pequeños animales. Multimédica. Barcelona, España.

26. Nagata, M. 2000. Diagnóstico de la dermatitis atópica. En: Waltham Focus. Vol. 10. No. 2. Inglaterra.
27. Navarro, L. 1992. Introducción a la dermatología felina. Tesis. FES-C. UNAM. México.
28. Nesbitt, G. y Ackerman, L. 2001. Dermatología canina y felina. Diagnóstico y tratamiento. Intermédica. B.A., Argentina.
29. Nolasco, L. 1996. Dermatología. En: Examen general de calidad profesional para médico veterinario zootecnista. Material de estudio: área caninos y felinos. Vol.1. UNAM. México.
30. Nolasco, L., Carrera, R. y Colín, R. 1999. Complejo pénfigo en perros y gatos: diagnóstico y tratamiento. En: Revista AMMVEPE. 10:3. 82-86.
31. Olivry, T., LaVoy, A., Dunston, S., Brown, R., Lennon, E., Warren, S., Prisyanh, P., Müller, E., Suter, M. y Dean, G. 2006. Desmoglein-1 is a minor autoantigen in dogs with pemphigus foliaceus. Veterinary immunology and immunopathology. 110: 245-255.
32. Roitt, M. y Delves, P. 2003. Inmunología. Fundamentos. 10ª edición. Editorial médica panamericana. México.
33. Ross, M., Romrell, L., y Kaye, G. 1998. Histología. Texto y atlas a color. 3ª edición. Editorial médica panamericana. México.
34. Schultz, K. 1999. Inmunología actual de la alergia. En: Kirk. Terapéutica veterinaria de pequeños animales XII. Mc Graw Hill-Interamericana. D.F., México.
35. Scott, D., Millar, W., y Griffin, C. 2002. Muller and Kirk's Dermatología en pequeños animales. 6ª edición. Intermédica. Buenos Aires, Argentina.
36. Stevens, A., y Lowe, J. 1999. Histología humana. 2ª edición. Harcourt/Brace. Barcelona, España.
37. Tizard, I. 1998. Inmunología veterinaria. McGraw-Hill Interamericana. D.F., México.
38. Trigo, F. 1998. Patología sistémica veterinaria. 3ª edición. Mc Graw Hill-Interamericana. D.F., México.
39. Werner, A. 1999. Recognizing and treating discoid lupus erythematosus and pemphigus foliaceus in dogs. Veterinary Medicine. 94:11. 955-966.

40. Willemse, T. 1999. Dermatología clínica de perros y gatos. Intermédica. Buenos Aires, Argentina.