

ARTÍCULO DE REVISIÓN

**Actualización en dermatosis autoinmunes en caninos
caracterizadas por pústulas, vesículas y ampollas:
anatomopatología y diagnóstico**

**Update on autoimmune dermatoses in canines characterized by pustules,
vesicles and blisters: anatomopathology and diagnosis**

C. Sieben^{1,2,3}, M.A. Machuca³, G. Broglia¹, A.R. Massone³

RESUMEN

El objetivo de la presente revisión fue realizar una actualización sobre los aspectos clínicos, histopatológicos y patogenia de las dermatosis autoinmunes que afectan a los caninos y que se caracterizan por pústulas, vesículas y ampollas como lesión primaria. Se consideran los aspectos clínicos y las características histopatológicas de las enfermedades que componen el complejo pénfigo y las enfermedades ampollares subepidérmicas autoinmunes. Además, se describen las técnicas inmunológicas utilizadas en el diagnóstico y la caracterización de este grupo de enfermedades.

Palabras clave: canino; dermatosis autoinmunes; complejo pénfigo; enfermedades ampollares subepidérmicas autoinmunes; inmunodiagnóstico

ABSTRACT

The aim of this revision was to update the clinical, histopathological and pathogenic aspects of autoimmune dermatoses that affect canines and that are characterized by pustules, vesicles and blisters as the primary lesion. The clinical aspects and the histopathological features of the diseases that are part of the pemphigus complex and the

¹ Hospital Escuela, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Argentina

² Becario, Universidad Nacional de La Plata, Argentina

³ Laboratorio de Patología Especial Veterinaria DR. B. Epstein, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Argentina

⁴ E-mail: csieben@fcv.unlp.edu.ar

Recibido: 10 de abril de 2018

Aceptado para publicación: 5 de enero de 2019

autoimmune subepidermal bullous diseases are considered. In addition, immunological techniques used in the diagnosis and characterization of this group of diseases are described.

Key words: canine; autoimmune dermatoses; pemphigus complex; autoimmune subepidermal blistering diseases; immunodiagnostic

INTRODUCCIÓN

Las dermatosis de origen inmune se dividen en dermatosis por hipersensibilidad, autoinmunes y otras enfermedades inmunes de etiología diversa. Las dermatosis autoinmunes se presentan cuando el sistema inmune no puede tolerarse a sí mismo (tolerancia inmunológica) y organiza una respuesta mediada por anticuerpos o linfocitos activados contra estructuras normales de la piel, generando daño (Miller *et al.*, 2014). En el caso de las enfermedades inmunomediadas, el antígeno es ajeno al cuerpo, como sucede con fármacos, bacterias y virus que estimulan una reacción inmunológica (Miller *et al.*, 2014).

Las enfermedades autoinmunes de la piel de caninos no son comunes y en la gran mayoría de los casos se desconoce el desencadenante de la producción de células T o B contra estructuras propias (autoantígenos) (Mauldin y Peters-Kennedy, 2016). Las dermatosis autoinmunes que presentan pústulas, vesículas y ampollas se dividen en dos grupos: el complejo pénfigo, integrado por el pénfigo foliáceo (PF), el pénfigo eritematoso (PE), el pénfigo vulgar (PV) y el pénfigo paraneoplásico (PPN), y las denominadas enfermedades ampollares subepidérmicas autoinmunes (EASA), como el pénfigoide buloso o ampollar (PB), la epidermólisis bullosa adquirida (EBA), el pénfigoide de las membranas mucosas (PMM), la epidermólisis ampollar de la unión (EAU) y la enfermedad IgA lineal (EAL) (Hargis y Myers, 2017).

ASPECTOS CLÍNICOS E HISTOPATOLÓGICOS

Complejo Pénfigo

El complejo pénfigo abarca un grupo de enfermedades autoinmunes de la piel descrita en diversas especies (perro, gato, caballo, cabra, oveja, llama y mono), que se caracterizan por la pérdida de cohesión entre las células epidérmicas, fenómeno conocido como acantólisis (Burge *et al.*, 1993; Gross *et al.*, 2005; Peters *et al.*, 2007; Hargis y Myers, 2017). Los desmosomas son estructuras intercelulares complejas fundamentales en la adhesión entre células y se encuentran en todos los epitelios (principalmente en epidermis e intestino) y también en el músculo cardíaco (Olivry y Linder, 2009; Ide *et al.*, 2010). En el complejo pénfigo se observa una unión de autoanticuerpos (inmunoglobulinas) a los componentes del desmosoma, ocasionando su ruptura, dando lugar a la acantólisis y desorganización del citoesqueleto (Olivry y Linder, 2009).

Los desmosomas están formados por tres grandes familias de proteínas: las cadherinas transmembrana, las proteínas de la familia de armadillo y las plaquinas (Figura 1). Los miembros de la familia cadherina, las desmogleinas 1 a 4 (Dsg) y desmocollinas 1 a 3 (Dsc) son parte de la interfase adhesiva y sus colas citoplasmáticas proporcionan una plataforma de unión para la placoglobina (PG) y la placofilina (PFi), proteínas de la familia armadillo. Los miembros de la familia

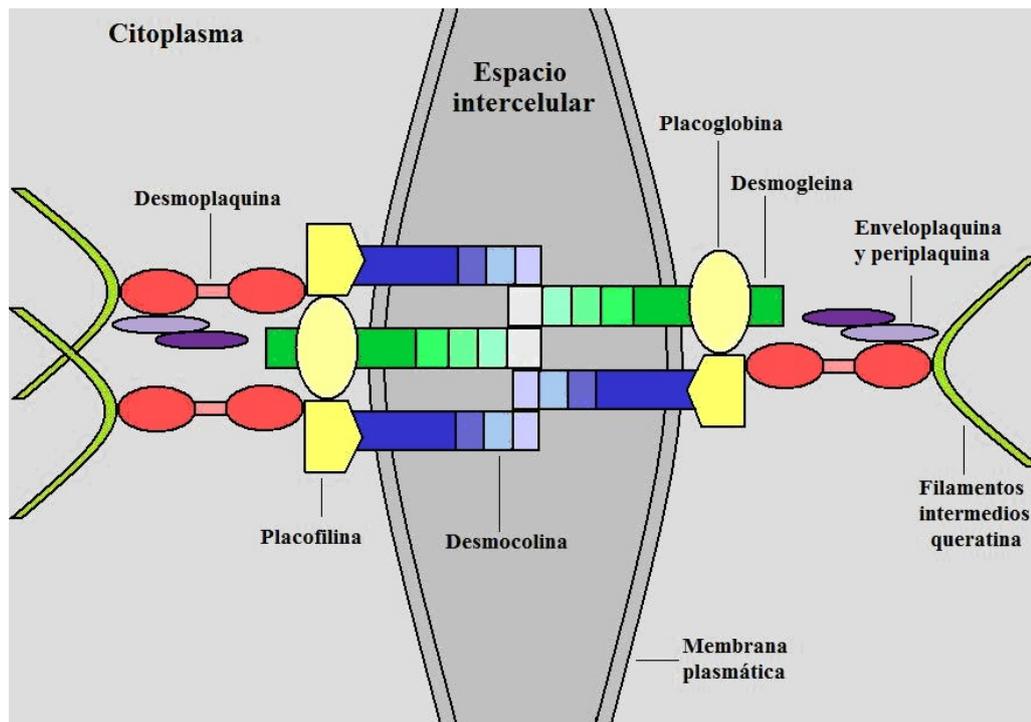


Figura 1. Estructura y componentes del desmosoma. Adaptado de Waschke (2008)

plaquinas, desmoplaquina 1 y 2 (DP), envoloplaquina (EP) y periplaquina (PP), se enlazan con los filamentos intermedios del citoesqueleto otorgándole mayor rigidez a la unión (Green y Simpson, 2007; Ellebrecht y Payne, 2014). En la patogenia del complejo pénfigo, la Dsg1, Dsg3 y Dsc1 son los principales autoantígenos. La Dsg1 y Dsc1 se encuentran en las capas más superficiales de la epidermis (estrato granuloso y espinoso), mientras que, la Dsg3 predomina en las capas basales y suprabasales de la epidermis (Miragliotta *et al.*, 2005; Bizikova *et al.*, 2012).

Se han descrito cuatro tipos de pénfigo en perros, los cuales se clasifican de acuerdo con las manifestaciones clínicas e histopatológicas en pénfigo foliáceo, pénfigo eritematoso, pénfigo vulgar y pénfigo paraneoplásico (Ide *et al.*, 2010).

Pénfigo foliáceo

Es la enfermedad autoinmune más frecuente dentro del complejo pénfigo en caninos (Ihrke *et al.*, 1985; Olivry, 2006, Olivry y Linder, 2009; Bizikova *et al.*, 2012). Los primeros estudios reconocieron como antígeno a la Dsg1 (Olivry *et al.*, 2006; Yabuzoe *et al.*, 2009), posteriormente, en 2012 se propuso a la Dsc1 como el autoantígeno más importante en caninos con PF (Bizikova *et al.*, 2012).

El PF presenta pústulas o vesiculopústulas que rápidamente evolucionan a erosiones y costras (Kuhl *et al.*, 1994; Olivry y Linder, 2009; Miller *et al.*, 2014). Las lesiones aparecen inicialmente en la región de la cara, principalmente en dorsal de la nariz, plano nasal, región infraorbitaria o bien periocular y pabellones auriculares (Ihrke *et al.*, 1985; Olivry y Chan, 2001; Olivry, 2006). En estas

áreas, la distribución es bilateral y simétrica (Ihrke *et al.*, 1985; Olivry y Chan, 2001; Olivry, 2006; Olivry y Linder, 2009; Miller *et al.*, 2014). En algunos casos se presenta una distribución generalizada, encontrándose lesiones en el cuerpo y en las almohadillas plantares (Ihrke *et al.*, 1985; Olivry y Chan, 2001). Kawarai *et al.* (2015) describe un caso en el cual se asoció el cuadro clínico de PF con trombocitopenia inmunomediada.

Microscópicamente se observa acantólisis con presencia de pústulas y vesículas subcorneales, intragranulares o subgranulares (Olivry y Linder, 2009; Vaughan *et al.*, 2010), tanto en la epidermis como en los folículos pilosos (Gross *et al.*, 2005). En su interior, las pústulas, presentan principalmente neutrófilos y en menor cantidad eosinófilos. También se pueden observar grupos de células acantolíticas libres o adheridas a la pared de estas (Gross *et al.*, 2005; Peters *et al.*, 2007). Es frecuente encontrar abundantes neutrófilos en íntima relación con los queratinocitos acantolíticos, lo que sugiere que estos jugarían un papel auxiliar en la disociación de los queratinocitos (Yabuzoe *et al.*, 2008). En dermis superficial se observa inflamación perivascular e intersticial acompañada de edema, ectasia vascular y congestión. El infiltrado inflamatorio está compuesto por neutrófilos y eosinófilos, que se entremezclan con un menor número de macrófagos, linfocitos y células plasmáticas (Gross *et al.*, 2005).

Pénfigo eritematoso

El PE es una enfermedad cutánea que combina lesiones cutáneas pustulosas superficiales, similares a las del PF, con lesiones cutáneas nasales ulcerativas profundas que recuerdan a aquellas presentes en animales con lupus eritematoso discoide (LED) (Bhang *et al.*, 2008; Olivry y Linder, 2009). El principal autoantígeno es la Dsg1 y secundariamente se reconoce a la PP (Olivry, 2006).

Las lesiones consisten en pústulas que evolucionan a úlceras, erosiones y costras. También pueden observarse áreas con despigmentación. La localización de las lesiones es en la cara, principalmente en la nariz y en los pabellones auriculares (Olivry, 2006; Bedolla *et al.*, 2009; Miller *et al.*, 2014).

Microscópicamente se observan pústulas acantolíticas neutrofilicas y eosinofilicas intragranulares y subcorneales en la piel, similares a las observadas en el PF. En la unión de la dermis con la epidermis se evidencia un infiltrado de células mononucleares, células plasmáticas, neutrófilos y eosinófilos, denominado dermatitis liquenoide de interfase. Esta lesión recuerda a las descritas en el LED (Gonsalves-Hubers, 2005; Olivry, 2006).

Pénfigo vulgar

El PV es una enfermedad autoinmune severa y poco frecuente de la piel de caninos que se caracteriza por la formación de vesículas, ampollas y, posteriormente, úlceras en uniones mucocutáneas o exclusivamente en mucosas (Gross *et al.*, 2005). En el PV de las mucosas, el autoantígeno es la Dsg3 (Olivry *et al.*, 2003; Nishifuji *et al.*, 2007), mientras que en el PV de ubicación mucocutánea se ha detectado a la Dsg1 en combinación con Dsg3 (Nishifuji *et al.*, 2007). Los autoanticuerpos en la epidermis o epitelio de la mucosa se unen a la Dsg3, originando acantólisis suprabasal (Gross *et al.*, 2005). Otros autores citan también a la PG como participante en la formación de las lesiones (Caldelari *et al.*, 2001).

Las lesiones primarias consisten en vesículas y ampollas que evolucionan rápidamente a erosiones y úlceras irregulares (Olivry y Linder, 2009). Las lesiones se presentan inicialmente en la mucosa oral y uniones mucocutáneas. También se han descrito lesiones en la región axilar e inguinal (Olivry y Linder, 2009; Miller *et al.*, 2014). El lecho ungueal puede estar afectado presentando

paroniquia ulcerativa y onicomadesis (Gross *et al.*, 2005; Miller *et al.*, 2014). En los animales afectados suele verse el signo de Nikolsky positivo (Olivry y Linder, 2009; Miller *et al.*, 2014). Los pacientes con enfermedad severa pueden presentar signos sistémicos como letargia, anorexia y pérdida de peso (Olivry y Linder, 2009).

Microscópicamente, las lesiones más tempranas consisten en espongiosis epidérmica y vacuolización suprabasal (Olivry y Chan, 2001), mientras que las lesiones tardías se caracterizan por acantólisis suprabasal y la formación de vesículas suprabasales (Femiano, 2007) con células acantolíticas libres (Gross *et al.*, 2005). Las células basales se mantienen unidas a la zona de membrana basal como una hilera de «lápidas» (Gross *et al.*, 2005; Miller *et al.*, 2014). La separación epitelial también puede producirse en el infundíbulo folicular y sus anexos glandulares (Olivry y Chan, 2001). Se describe, además, una forma alopecica, menos frecuente, donde la separación suprabasal se limita al istmo y segmentos inferiores del folículo piloso, sin que se observe acantólisis suprabasal de la epidermis (Olivry y Jackson, 2001a). El infiltrado inflamatorio en dermis puede ser perivascular superficial, intersticial o liquenoide (Olivry y Jackson, 2001b; Gross *et al.*, 2005).

Pénfigo paraneoplásico

El PPN es una enfermedad autoinmune severa y poco frecuente, caracterizada por la formación de ampollas asociada a enfermedades neoplásicas (Olivry *et al.*, 2000a; Elmore *et al.*, 2005; Gross *et al.*, 2005). Las pruebas inmunológicas revelan autoanticuerpos IgG circulantes contra la Dsg3 y contra las plaquitas EP, PP y DP 1 y 2 (de Bruin *et al.*, 1999; Elmore *et al.*, 2005).

El PPN se caracteriza por la formación de ampollas y erosiones localizadas principalmente en las mucosas o uniones muco-

cutáneas (Olivry *et al.*, 2000a). Los signos sistémicos consisten en hipertermia, letargia y depresión (Olivry y Linder, 2009). La literatura solo reporta tres casos en perros seniles con un timoma, un linfoma tímico metastático y un sarcoma indiferenciado (Olivry y Linder, 2009).

Microscópicamente, las lesiones de PPN exhiben una combinación de acantólisis suprabasal, como ocurre en el PV, y dermatitis de interfase con queratinocitos apoptóticos (Olivry *et al.*, 2000a; Elmore *et al.*, 2005). En menor medida, pústulas intraepidérmicas con queratinocitos libres como en el PF (Gross *et al.*, 2005). La acantólisis no es siempre suprabasal como en el PV, sino que afecta también al estrato espinoso inferior, dejando múltiples capas de queratinocitos en el piso de la separación. Puede haber satelitosis linfocítica de los queratinocitos apoptóticos. La dermis contiene un infiltrado mononuclear mixto de linfocitos, macrófagos, células plasmáticas y neutrófilos (Gross *et al.*, 2005).

Enfermedades Ampollares Subepidérmicas Autoinmunes

Las EASA son un grupo de enfermedades de la piel que afectan a diversas especies (caninos, felinos, equinos, porcinos y bovinos) y se encuentran asociadas con la presencia de autoanticuerpos dirigidos contra los componentes de la unión dermoepidérmica (unión D-E) (Favot *et al.*, 2003). Abarca un grupo de entidades que muestran diferencias en los signos clínicos, características microscópicas y respuesta al tratamiento (Olivry y Dunston, 2010). En todas ellas se producen separaciones o hendiduras, dando lugar a la formación de vesículas o ampollas subepidérmicas (Miller *et al.*, 2014).

La unión D-E esta conformada por los queratinocitos basales, la membrana basal y sus estructuras de anclaje, los hemidesmosomas. Los queratinocitos basales presentan un citoesqueleto con filamentos interme-

dios de queratina que se conectan con la membrana basal a través de los hemidesmosomas. La membrana basal se subdivide en la lámina basal compuesta por la lámina lúcida y la lámina densa, conformada principalmente por laminina 332 y colágeno tipo IV y la sublámina densa que se localiza en la interfase entre la lámina densa y la dermis papilar. Contienen estructuras denominadas fibrillas y placas de anclaje junto a proteínas fibrilares dérmicas (colágeno tipo I, III y VII) (Figura 2). Los hemidesmosomas son estructuras con función de anclaje y señalización celular que están situados en la membrana plasmática basal de los queratinocitos basales. Las proteínas fundamentales del hemidesmosoma son colágeno XVII (Figura 3), plectina, antígeno penfigoide buloso tipo 1 (BPAG1/BP230) e integrina $\alpha 6\beta 4$ (Figura 2) (Campos Domínguez *et al.*, 2006).

Dentro de este grupo de enfermedades se incluyen el penfigoide buloso, la epidermólisis bullosa adquirida, el penfigoide de las membranas mucosas, la epidermólisis ampollar de la unión adquirida y la enfermedad IgA lineal.

Penfigoide buloso o ampollar

El PB es un proceso autoinmune poco frecuente. Las lesiones consisten en vesículas y bullas, que progresan a erosiones, úlceras y costras (Iwasaki *et al.*, 1995; Olivry y Chan, 2001). Se localizan en la cabeza, pabellones auriculares y región del dorso y, con menos frecuencia, en las mucosas o las uniones mucocutáneas. Las lesiones progresan y se produce la cicatrización, aunque con frecuencia, se desarrollan nuevas vesículas y ampollas dentro de la cicatriz (Gross *et al.*,

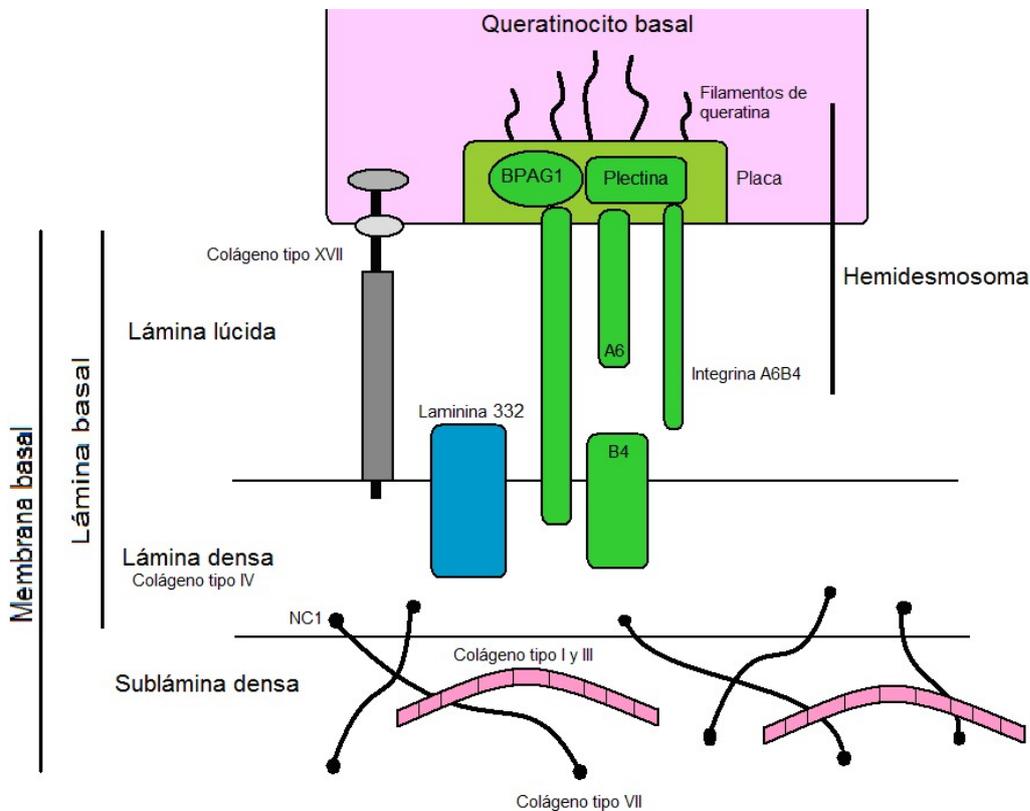


Figura 2. Unión dermoepidérmica compuesta por queratinocito basal, membrana basal y hemidesmosoma. Adaptado de Campos Domínguez *et al.* (2006)

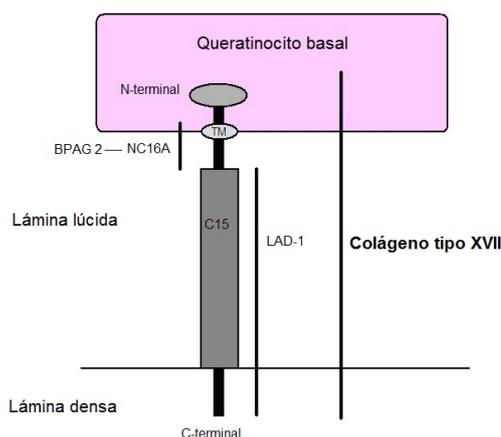


Figura 3. Estructura del colágeno tipo XVII. Adaptado de Campos Domínguez *et al.* (2006)

2005). Los autoanticuerpos, en caninos, son IgG dirigidos contra el antígeno penfigoide buloso 2 (BPAG2), sección extracelular no colágena (NC16A) del colágeno XVII (Figura 3) (Olivry *et al.*, 2000b; Olivry y Chan, 2001; Miller *et al.*, 2014).

Microscópicamente se observan pequeñas a grandes vesículas o bullas en la piel que desarrollan en la unión D-E con la consiguiente formación de hendiduras. Estas lesiones pueden extenderse al infundíbulo folicular (Gross *et al.*, 2005). En el interior de la bulla se pueden observar abundantes eosinófilos y neutrófilos, a menudo mezclados con fibrina (Olivry y Chan, 2001; Gross *et al.*, 2005). En estas lesiones no hay acantosis. El infiltrado inflamatorio en dermis es mixto, compuesto por eosinófilos, neutrófilos y células mononucleares, variando desde leve a marcado, de ubicación perivascular y liquenoide respectivamente (Gross *et al.*, 2005; Miller *et al.*, 2014).

Epidermólisis bullosa o ampollar adquirida

La EBA al igual que otras EASA, fue clasificada como PB hasta 1995 (Hill *et al.*, 2008). Se caracteriza por la formación de

bullas asociadas con autoanticuerpos dirigidos contra el colágeno tipo VII (dominio amino-terminal no colágeno NC1), componente principal de las fibrillas de anclaje dérmico (Figura 2) (Bizikova *et al.*, 2015).

En los caninos con EBA se pueden presentar de forma generalizada (más común) o localizada (un solo caso reportado) (Olivry y Chan, 2001; Gross *et al.*, 2005). En la forma generalizada, hay placas eritematosas y ronchas ubicadas en la región de la cara, axilar, abdominal e inguinal. Estas lesiones progresan a vesículas que se rompen y provocan ulceración. Se observa, además, erosiones en la mucosa oral y en las uniones mucocutáneas (Olivry y Chan, 2001; Olivry y Jackson, 2001b; Gross *et al.*, 2005). El cuadro se acompaña de hipertermia, letargo, y depresión (Olivry y Chan, 2001; Olivry y Jackson, 2001b). Presenta bacteriemia estafilocócica, anemia y trombocitopenia (Olivry y Chan, 2001; Miller *et al.*, 2014). En la presentación localizada, las lesiones se limitan a la región de la cabeza y el dorso (Olivry y Chan, 2001; Olivry y Jackson, 2001b).

Las lesiones microscópicas de EBA son similares en ambas formas de la enfermedad. Hay presencia de bullas subepidérmicas grandes y planas que incluso pueden contener sangre (Bizikova *et al.*, 2015). Los neutrófilos se acumulan a lo largo de la base o dentro de la separación (Gross *et al.*, 2005). En las lesiones más antiguas de la epidermis se observan úlceras (Olivry y Chan, 2001). En la dermis, la inflamación es de leve a moderada con neutrófilos, eosinófilos y un menor número de linfocitos y células plasmáticas, ubicándose en la dermis superficial o perianexal (Gross *et al.*, 2005).

Penfigoide de las membranas mucosas

El PMM, antes llamado penfigoide cicatricial, es una enfermedad ampollar poco frecuente, subepidérmica que afecta las membranas mucosas, uniones mucocutáneas y, con mucho menor frecuencia, zonas de piel con pelo. El antígeno principal es el BPAG2,

adicionalmente BPAG1, integrina $\alpha 6\beta 4$, laminina 332 y, raramente, el colágeno tipo VII (Figuras 2 y 3) (Olivry *et al.*, 2002; Miller *et al.*, 2014; Tham *et al.*, 2016).

Las lesiones de PMM son vesículas, erosiones y úlceras que se ubican principalmente en la mucosa de la cavidad oral (encías, paladar duro y lengua) y uniones mucocutáneas de la nariz, de los párpados, de los conductos auditivos, del ano y de los genitales externos (Olivry *et al.* 2001; Olivry y Jackson, 2001b; Tham *et al.*, 2016). Inicialmente, algunos pacientes con PMM pueden presentar despigmentación de las uniones mucosas (Olivry *et al.*, 2001).

Microscópicamente, las vesículas se observan en la unión D-E debajo de la epidermis intacta, al igual que en PB. Las vesículas o ampollas se encuentran generalmente desprovistas de células inflamatorias. En la dermis superficial hay infiltración de neutrófilos, eosinófilos y, con menor frecuencia, linfocitos y células plasmáticas. La inflamación se vuelve liquenoide en lesiones crónicas (Gross *et al.*, 2005).

Epidermólisis ampollar de la unión adquirida

Es una variante de la EASA descrita previamente. Se observan autoanticuerpos IgG contra laminina 332 (Figura 2). Se observan vesículas y úlceras ubicadas en la mucosa oral, en las regiones de los miembros torácicos y pelvianos, pabellones auriculares y región de la nariz. Al microscopio se observan vesículas que solo contienen eritrocitos e inflamación neutrofilica subepidérmica (Miller *et al.*, 2014).

Enfermedad IgA lineal

La EAL es una dermatosis autoinmune ampollosa subepidérmica poco frecuente. Los autoanticuerpos IgG e IgA se dirigen contra el autoantígeno LAD-1, el segmento extracelular del colágeno de tipo XVII pro-

cesado (Figura 3) (Olivry *et al.*, 2000b). Los caninos con EAL presentan lesiones ulcerativas en la mucosa oral, la región de la cara y en las almohadillas plantares (Olivry y Chan, 2001). Se afectan también zonas de fricción como la región axilar e inguinal (Gross *et al.*, 2005).

En la evaluación microscópica se observan vesículas subepidérmicas, con ausencia de células inflamatorias o con escasos neutrófilos (Olivry y Chan, 2001) y, en ocasiones, presencia de exudado fibrinoso. La inflamación dérmica por debajo de las ampollas es leve e incluye neutrófilos, linfocitos, células plasmáticas y macrófagos (Gross *et al.*, 2005).

DIAGNÓSTICO

Los criterios diagnósticos de las enfermedades que componen el complejo pénfigo se basan en la anamnesis, el examen clínico y la histopatología (Bedolla *et al.*, 2009). Asimismo, la aplicación de las técnicas de inmunofluorescencia directa (IFD) e inmunohistoquímica (IHQ) son utilizadas en el diagnóstico de pacientes con pénfigo. La IFD y la IHQ permiten identificar depósitos intercelulares de IgG, IgM y, frecuentemente, la fracción C3 del complemento (Bedolla *et al.*, 2009). La inmunomarcación permite identificar estos depósitos rodeando los queratinocitos de las diferentes capas de la epidermis e infundíbulo folicular, como así también en la zona de interfase entre la epidermis y la dermis (Shinya *et al.*, 1996; Bedolla *et al.*, 2009). En los pacientes con PF, los depósitos se ubican en los estratos superficiales de la epidermis. En el PV y PPN, los depósitos se encuentran rodeando a los queratinocitos de la capa basal de la epidermis. Finalmente, en el PE se presenta una combinación de depósitos en las capas superficiales de la epidermis y en la zona de interfase, siendo estas ubicaciones similares a las observadas en pacientes con PF y LED respectivamente. (Shinya *et al.*, 1996; Bedolla *et al.*, 2009).

Cuadro 1. Características diagnósticas clave de las EASA

EASA	Antígeno blanco	Ubicación del Colágeno tipo IV*	Ubicación de los autoanticuerpos - IFI (piel separada con sal)§
Penfigoide bulloso	Colágeno XVII (BPAG2)	Ambos lados	Superior (lado epidérmico)
Epidermolísis bullosa adquirida	Colágeno VII	Superior	Inferior (lado dérmico)
Penfigoide de las membranas mucosas	BPAG2 BPAG1 Integrina $\alpha 6\beta 4$ Laminina 332 Colágeno tipo VII	Mayormente abajo y en ocasiones a ambos lados	Superior (lado epidérmico). Ocasionales depósitos en el lado dérmico
Enfermedad IgA lineal	Colágeno XVII procesado (LAD-1)	Abajo	Superior (lado epidérmico)
Epidermolísis ampollar de la unión adquirida	Laminina 332	Abajo	Ambos o inferior (lado dérmico)

* La tinción con colágeno tipo IV se aplica sobre la piel de los pacientes que presentan vesículas

§ La técnica de IFI se realiza con suero del paciente sobre piel o mucosas separadas previamente con sal.

La inmunomarcación es con base a la hendidura creada

EASA: enfermedades ampollares subepidérmicas autoinmunes

Adaptado de Miller *et al.* (2014)

La aplicación de técnicas de inmunofluorescencia indirecta (IFI) son utilizadas para la detección de autoanticuerpos circulantes, ya sea en queratinocitos provenientes de cultivos celulares o en diferentes sustratos como piel o mucosas normales. Se ha demostrado que la sensibilidad de la prueba varía según el sustrato utilizado (Iwasaki, 1996; Olivry *et al.*, 2003, 2009; Honda *et al.*, 2004; Yabuzoe, 2009). Otras técnicas, como los ensayos inmunoenzimáticos (ELISA) se utilizan para detectar IgG circulante frente a Dsg3 en caninos con PF, PV Y PPN (Nishifuji *et al.*, 2009). Las técnicas de inmunoprecipitación, inmunoblot y western blot también han sido utilizadas en el diagnóstico de PF, PV y PPN (Elmore *et al.*, 2005; Nishifuji *et al.*, 2007, 2009).

Para el diagnóstico de las EASA se utiliza la histopatología (Miller *et al.*, 2014). Como técnicas complementarias se utiliza una técnica de IHQ que detecta la ubicación del colágeno tipo IV (Campos Domínguez *et al.*, 2006). La inmunotinción del colágeno IV sobre la unión D-E debe realizarse sobre muestras de piel con lesiones vesiculares, pudiéndose visualizar el colágeno tipo IV en relación a la hendidura presente de manera de determinar el tipo de EASA presente (Campos Domínguez *et al.*, 2006) (Cuadro 1).

Para la detección de uniones antígeno-anticuerpo pueden emplearse las técnicas de IFD e IHQ que ponen en evidencia depósitos de IgG, IgM o fracción C3 del complemento, los cuales tiene una distribución de

tipo lineal en la unión D-E para todas las EASA (Iwasaki *et al.*, 1995; Olivry *et al.*, 1999; Favrot *et al.*, 2003; Bizikova *et al.*, 2015). Asimismo, en la EAL se observan depósitos de IgA (Olivry *et al.*, 2000; Olivry y Chan, 2001). Otra técnica que puede utilizarse para la diferenciación de las EASA es la IFI sobre muestras de piel o mucosa normales sometidas a un tratamiento previo con sal (cloruro de sodio) lo que genera una hendidura artificial a nivel de la lámina lúcida (Cuadro 1). La técnica consiste en enfrentar el tejido con el suero problema a fin de poner en evidencia la localización de los depósitos de autoanticuerpos. Estos se van a unir a la parte superior (lado epidérmico y lámina lúcida), o a la parte inferior (lado dérmico y lámina densa), o bien combinados a ambos lados cuando hay varios antígenos presentes (Olivry *et al.*, 2000; Hill *et al.*, 2008; Olivry y Dunston, 2010; Miller *et al.*, 2014). Por último, pueden detectarse autoanticuerpos no solo en piel, sino también en suero y orina, a través de técnicas de IFI, ELISA, inmunoblot e inmunoprecipitación (Campos Domínguez *et al.*, 2006). Las pruebas de anticuerpos antinucleares (ANA) y de Coombs también han sido utilizadas en el diagnóstico de EBA y LESA 1 (Olivry *et al.*, 1999; Olivry *et al.*, 2001).

Tradicionalmente, el diagnóstico de las enfermedades autoinmunes de la piel de caninos se ha realizado en base a los hallazgos clínicos e histopatológicos. En la actualidad y con el avance de la tecnología, nuevas técnicas inmunológicas permiten complementar el diagnóstico, y, en muchos casos, confirmarlo. La inmunodermatología ha experimentado, en los últimos años, un gran crecimiento. Se han logrado progresos relevantes en lo que se refiere a nuevos conocimientos y puesta a punto de técnicas de laboratorio cada vez más específicas. En Europa y EEUU se han logrado avances significativos en la patogenia y en el diagnóstico de las dermatosis autoinmunes por medio de la implementación de técnicas inmunológicas como la IFI y la IHQ y otras más complejas como la IFI, ELISA, inmunoprecipitación, inmunoblot y

western blot. El uso de nuevas técnicas ha permitido reclasificar estas enfermedades que son histológicamente similares, pero que tienen una patogénesis diferente.

CONCLUSIONES

La presencia de lesiones como pústulas, vesículas y bullas, así como erosiones, úlceras y costras debe alertar al clínico sobre la posibilidad de estar frente a una dermatosis autoinmune. La primera aproximación al diagnóstico se realiza por medio de la histopatología. En las enfermedades que componen el complejo pénfigo, las pústulas y vesículas ubicadas en los diferentes estratos de la epidermis, junto a la presencia de acantólisis y queratinocitos acantolíticos, orientan hacia su diagnóstico. A diferencia de las enfermedades del complejo pénfigo, en las EASA es necesario contar con la presencia de vesículas y bullas a nivel de la unión D-E, encontrándose ausente la acantólisis y los queratinocitos acantolíticos. En la actualidad resulta indispensable la incorporación de técnicas inmunológicas que complementen el diagnóstico clínico e histopatológico con el fin de lograr una mejor clasificación y caracterización de este grupo de enfermedades, muchas veces, subdiagnosticadas. El uso de técnicas diagnósticas más complejas permite poner en evidencia cuales son los diferentes antígenos hacia los cuales se dirigen los autoanticuerpos propios de estas enfermedades.

LITERATURA CITADA

1. **Bhang DH, Choi US, Jung YC, Kim MK, Choi EW, Seo KW, Kang MS, et al. 2008.** Topical 0.03% tacrolimus for treatment of pemphigus erythematosus in a Korea Jindo dog. *J Vet Med Sci* 70: 415-417. doi: 10.1292/jvms.70.415
2. **Bedolla MA, Salas G, Constantino F. 2009.** Diagnóstico inmunohistoquímico de dermatosis inmunomediadas en perros domésticos. *Vet Méx* 40: 181-189.

3. **Bizikova P, Dean GA, Hashimoto T, Olivry T. 2012.** Cloning and establishment of canine desmocollin-1 as a major autoantigen in canine pemphigus foliaceus. *Vet Immunol Immunop* 149: 197-207. doi: 10.1016/j.vetimm.2012.-06.025
4. **Bizikova P, Linder KE, Wofford JA, Mamo LB, Dunston SM, Olivry T. 2015.** Canine epidermolysis bullosa acquisita: a retrospective study of 20 cases. *Vet Dermatol* 26: 441-450. doi: 10.1111/vde.12255
5. **Burge SM, Wilson CL, Dean D, Wojnarowska F. 1993.** An immunohistological study of desmosomal components in pemphigus. *Brit J Dermatol* 128: 363-370. doi: 10.1111/j.1365-2133.1993.-tb00192.x
6. **Caldelari R, de Bruin A, Baumann D, Suter MM, Bierkamp C, Balmer V, Müller E. 2001.** A central role for the armadillo protein plakoglobin in the autoimmune disease pemphigus vulgaris. *J Cell Biol* 153: 823-834. doi: 10.1083/jcb.153.4.823
7. **Campos Domínguez M, Suárez R, Ochaita PL. 2006.** Métodos diagnósticos en las enfermedades ampollosas subepidérmicas autoinmunes. *Actas Dermosifiliogr* 97: 485-502. doi: 10.1016/S0001-7310(06)73450-0
8. **de Bruin A, Müller E, Wyder M, Anhalt GJ, Lemmens P, Suter MM. 1999.** Periplakin and envoplakin are target antigens in canine and human paraneoplastic pemphigus. *J Am Acad Dermatol* 40: 682-685. doi: 10.1016/S0190-9622(99)70147-7
9. **Ellebrecht CT, Payne AS. 2014.** Plakop-hilins, desmogleins, and pemphigus: the tail wagging the dog. *J Invest Dermatol* 134: 874-876. doi: 10.1038/jid.2013.491
10. **Elmore SA, Basseches J, Anhalt GJ, Cullen JM, Olivry T. 2005.** Paraneoplastic pemphigus in a dog with splenic sarcoma. *Vet Pathol* 42: 88-91. doi: 10.1354/vp.42-1-88
11. **Favrot C, Dunston SM, Paradis M, Olivry T. 2003.** Isotype determination of circulating autoantibodies in canine autoimmune subepidermal blistering dermatoses. *Vet Dermatol* 14: 23-30. doi: 10.1046/j.1365-3164.2003.00320.x
12. **Femiano F. 2007.** Pemphigus vulgaris: recent advances in our understanding of its pathogenesis. *Minerva Stomatol* 56: 215-223.
13. **Gonsalves-Hubers T. 2005.** Pemphigus erythematosus in a chow chow. *Can Vet J* 46: 925-927.
14. **Green KJ, Simpson CL. 2007.** Desmosomes: new perspectives on a classic. *J Invest Dermatol* 127: 2499-2515. doi: 10.1038/sj.jid.5701015
15. **Gross TL, Ihrke PJ, Walder EJ, Affolter VK. 2005.** Skin diseases of the dog and cat. In: *Clinical and histopathologic diagnosis*. 2nd ed. Blackwell Publishing. p 13-43.
16. **Hargis AM, Myers S. 2017.** The integument. In: Zachary JF, McGavin MD (eds). *Pathologic basis of veterinary disease*. 6th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier. p 1009-1146.
17. **Hill PB, Boyer P, Lau P, Rybnicek J, Hargreaves J, Olivry T. 2008.** Epidermolysis bullosa acquisita in a Great Dane. *J Small Anim Pract* 49: 89-94. doi: 10.1111/j.1748-5827.2007.00419.x
18. **Honda R, Nishifuji K, Olivry T, White SD, Momoi Y, Iwasaki T. 2004.** Detection of circulating autoantibodies using living keratinocyte staining on MCA-B1 method in dogs with pemphigus foliaceus. *Res Vet Sci* 77: 105-113. doi: 10.1016/j.rvsc.2004.03.009
19. **Ide K, Yamamoto W, Sato M, Yabuzoe A, Iwasaki T, Nishifuji K. 2010.** Expression analysis of desmosomal components of the novel canine epidermal keratinocyte cell line (MSCEK). *J Vet Med Sci* 72: 1479-1482. doi: 10.1292/jvms.10-0089
20. **Ihrke PJ, Stannard AA, Ardans AA, Griffin CE. 1985.** Pemphigus foliaceus in dogs: a review of 37 cases. *J Am Vet Med Assoc* 186: 59-66.

21. **Iwasaki T, Olivry T, Lapiere JC, Chan LS, Peavey C, Liu YY, Jones JC, et al. 1995.** Canine bullous pemphigoid (BP): identification of the 180-kd canine BP antigen by circulating autoantibodies. *Vet Pathol* 32: 387-393. doi: 10.1177/030098589503200407
22. **Iwasaki T, Shimizu M, Obata H, Ogata M, Nagata M, Yanai T, Kitagawa H, Sasaki Y. 1996.** Effect of substrate on indirect immunofluorescence test for canine pemphigus foliaceus. *Vet Pathol* 33: 332-336.
23. **Kawarai S, Hisasue M, Matsuura S, Ito T, Inoue Y, Neo S, Fujii Y, et al. 2015.** Canine pemphigus foliaceus with concurrent immune-mediated thrombocytopenia. *J Am Anim Hosp Assoc* 51: 56-63. doi: 10.5326/JAAHA-MS-6044
24. **Kuhl KA, Shofer FS, Goldschmidt MH. 1994.** Comparative histopathology of pemphigus foliaceus and superficial folliculitis in the dog. *Vet Pathol* 31:19-27. doi: 10.1177/030098589403100103
25. **Mauldin EA, Peters-Kennedy J. 2016.** Integumentary system. In: Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer NC (eds). *Pathology of domestic animals*. 6th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier. p 509-736.
26. **Miller WH, Griffin CE, Campbell KL. 2014.** Muller & Kirk: dermatología en pequeños animales. 3^o ed. Buenos Aires: Intermédica. p 478-522.
27. **Miragliotta V, Coli A, Ricciardi MP, Podesta A, Abramo F. 2005.** Immunohistochemical analysis of the distribution of desmoglein 1 and 2 in the skin of dogs and cats. *Am J Vet Res* 66: 1931-1935. doi: 10.2460/ajvr.2005.-66.1931
28. **Nishifuji K, Olivry T, Ishii K, Iwasaki T, Amangai M. 2007.** IgG autoantibodies directed against desmoglein 3 cause dissociation of keratinocytes in canine pemphigus vulgaris and paraneoplastic pemphigus. *Vet Immunol Immunop* 117: 209-21. doi: 10.1016/j.vetimm.-2007.02.004
29. **Nishifuji K, Tamura K, Konno H, Olivry T, Amagai M, Iwasaki T. 2009.** Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for detection of circulating IgG autoantibodies against canine desmoglein 3 in dogs with pemphigus. *Vet Dermatol* 20: 331-337. doi: 10.1111/j.1365-3164.2009.00806.x
30. **Olivry T. 2006.** A review of autoimmune skin diseases in domestic animals: I-superficial pemphigus. *Vet Dermatol* 17: 291-305. doi: 10.1111/j.1365-3164.2006.00540.x
31. **Olivry T, Chan LS, Xu L, Chace P, Dunston SM, Fahey M, Marinkovich MP. 1999.** Novel feline autoimmune blistering disease resembling bullous pemphigoid in humans: IgG autoantibodies target the NC16A ectodomain of type XVII collagen (BP180/BPAG2). *Vet Pathol* 36: 328-335. doi: 10.1354/vp.36-4-328
32. **Olivry T, Alhaidari Z, Ghohestani RF. 2000a.** Anti-plakin and desmoglein autoantibodies in a dog with pemphigus vulgaris. *Vet Pathol* 37: 496-499. doi: 10.1354/vp.37-5-496
33. **Olivry T, Dunston SM, Fahey M, Nguyen N, Marinkovich MP. 2000b.** Autoantibodies against the processed ectodomain of collagen XVII (BPAG2, BP180) define a canine homologue of linear IgA disease of humans. *Vet Pathol* 37: 302-309. doi: 10.1354/vp.37-4-302
34. **Olivry T, Chan LS. 2001.** Autoimmune blistering dermatoses in domestic animals. *Clin Dermatol* 19: 750-760. doi: 10.1016/S0738-081X(00)00197-8
35. **Olivry T, Jackson HA. 2001a.** An alopecic phenotype of canine pemphigus vulgaris? *Brit J Dermatol* 145:176-178. doi: 10.1046/j.1365-2133.2001.04311.x
36. **Olivry T, Jackson HA. 2001b.** Diagnosing new autoimmune blistering skin diseases of dogs and cats. *Clin Tech Small An P* 16: 225-229. doi: 10.1053/svms.2001.26999

37. **Olivry T, Dunston SM, Schachter M, Xu L, Nguyen N, Marinkovich MP, Chan LS. 2001.** A spontaneous canine model of mucous membrane (cicatricial) pemphigoid, an autoimmune blistering disease affecting mucosa and mucocutaneous junctions. *J Autoimmun* 16: 411-421. doi: 10.1006/jaut.2001.0510
38. **Olivry T, Dunston SM, Zhang G, Ghohestani RF. 2002.** Laminin-5 is targeted by autoantibodies in feline mucous membrane (cicatricial) pemphigoid. *Vet Immunol Immunop* 88:123-129. doi: 10.1016/S0165-2427(02)00166-6
39. **Olivry T, Joubeh S, Dunston SM, Nishiyama T, Ghohestani RF. 2003.** Desmoglein-3 is a target autoantigen in spontaneous canine pemphigus vulgaris. *Exp Dermatol* 12: 198-203. doi: 10.1046/j.0906-6705.2002.072.x
40. **Olivry T, LaVoy A, Dunston SM, Brown RS, Lennon EM, Warren SJ, Prisayanh P, et al. 2006.** Desmoglein-1 is a minor autoantigen in dogs with pemphigus foliaceus. *Vet Immunol Immunop* 110: 245-255. doi: 10.1016/j.vetimm.2005.10.002
41. **Olivry T, Linder KE. 2009.** Dermatoses affecting desmosomes in animals: a mechanistic review of acantholytic blistering skin diseases. *Vet Dermatol* 20: 313-326. doi: 10.1111/j.1365-3164.2009.00821.x
42. **Olivry T, Dunston SM, Walker RH, Alhaidari Z, Messinger L, Liu Z. 2009.** Investigations on the nature and pathogenicity of circulating antikeratinocyte antibodies in dogs with pemphigus foliaceus. *Vet Dermatol* 20: 42-50. doi: 10.1111/j.1365-3164.2008.00723.x
43. **Olivry T, Dunston SM. 2010.** Usefulness of collagen IV immunostaining for diagnosis of canine epidermolysis bullosa acquisita. *Vet Pathol* 47: 565-568. doi: 10.1177/0300985809359609
44. **Peters J, Scott DW, Erb HN, Miller WH. 2007.** Comparative analysis of canine dermatophytosis and superficial pemphigus for the prevalence of dermatophytes and acantholytic keratinocytes: a histopathological and clinical retrospective study. *Vet Dermatol* 18: 234-240. doi: 10.1111/j.1365-3164.2007.00599.x
45. **Shinya K, Nomura K, Wada S, Morioka H, Umemura T. 1996.** Pemphigus foliaceus with typical histological and immunohistological findings in a dog. *J Vet Med Sci* 58: 815-817. doi: 10.1292/jvms.58.815
46. **Tham HL, Olivry T, Linder KE, Bizikova P. 2016.** Mucous membrane pemphigoid in dogs: a retrospective study of 16 new cases. *Vet Dermatol* 27: 376-394. doi: 10.1111/vde.12344
47. **Vaughan DF, Clay E, Hosgood GL, Bernstein JA. 2010.** Clinical and histopathological features of pemphigus foliaceus with and without eosinophilic infiltrates: a retrospective evaluation of 40 dogs. *Vet Dermatol* 21:166-174. doi: 10.1111/j.1365-3164.2009.00775.x
48. **Waschke J. 2008.** The desmosome and pemphigus. *Histochem Cell Biol* 130: 21-54. doi: 10.1007/s00418-008-0420-0
49. **Yabuzoe A, Nishifuji K, Sekiguchi M, Shimizu A, Momoi Y, Ishiko A, Iwasaki T. 2008.** Neutrophils contact to plasma membrane of keratinocytes including desmosomal structure in canine pemphigus foliaceus. *J Vet Med Sci* 70: 807-812. doi: 10.1292/jvms.70.807
50. **Yabuzoe A, Shimizu A, Nishifuji K, Momoi Y, Ishiko A, Iwasaki T. 2009.** Canine pemphigus foliaceus antigen is localized within desmosomes of keratinocyte. *Vet Immunol Immunop* 127: 57-64. doi: 10.1016/j.vetimm.2008.09.015