

Características ultraestructurales de la piel de pacientes con pénfigo foliáceo y vulgar endémico de la amazonía peruana. Reporte preliminar.

Ultrastructural Aspects of patients's skin with endemic pemphigus foliaceus and endemic pemphigus vulgaris from the peruvian amazonia. Preliminary report.

Carlos Galarza⁽¹⁾, Willy Ramos⁽¹⁾, Nancy Rojas⁽²⁾, Ericson L. Gutierrez⁽¹⁾, Elizabeth Neira⁽²⁾, Gerardo Ronceros⁽¹⁾, Gerardo Jiménez⁽³⁾, Isabel Rojas⁽⁴⁾, María Vilcarromero⁽¹⁾, Alex G. Ortega-Loayza⁽⁵⁾.

RESUMEN

OBJETIVO: Describir las características ultraestructurales de la piel de pacientes con pénfigo foliáceo endémico (PFE) y vulgar endémico (PVE) de la amazonía peruana. **INSTITUCIONES:** Instituto de Investigaciones Clínicas e Instituto de Patología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. **MATERIAL Y MÉTODOS:** Estudio descriptivo de tipo serie de casos. La población estuvo constituida por pacientes con las formas clínicas endémicas de pénfigo foliáceo y pénfigo vulgar captados en Hospital Regional de Pucallpa (Ucayali), Hospital Amazónico de Yarinacocha (Ucayali) y en el Hospital Nacional Dos de Mayo (Lima). Se tomó una muestra de piel de los pacientes obteniéndose una fracción para microscopía óptica de alta resolución (MOAR) y otra para microscopía electrónica de transmisión (MET) con la finalidad de determinar características ultraestructurales con énfasis en los desmosomas. **RESULTADOS:** La MOAR mostró la presencia de acantolisis subcorneal en los 7 casos de PFE y acantolisis suprabasal en los 2 pacientes con PVE. La MET realizada en el PFE mostró separación de las células en el estrato córneo en el 57.1%, separación de las células del estrato espinoso en 28.6% y del estrato basal en el 71.4%. La MET de los pacientes con PVE mostró separación de las células del estrato basal y del estrato espinoso en el 100%. Las alteraciones ultraestructurales observadas en común para el PFE y PVE fueron principalmente la pérdida de la estructura desmosómica, pérdida de la distribución normal de los tonofilamentos y ampliación de los espacios intercelulares. **CONCLUSIONES:** Los resultados preliminares muestran que las características ultraestructurales del PFE y PVE no presentan diferencias significativas con sus respectivas formas no endémicas. El PFE y PVE no presentan diferencias ultraestructurales importantes salvo la localización primaria de la acantolisis.

PALABRAS CLAVE: Pénfigo foliáceo endémico, pénfigo vulgar endémico, características ultraestructurales.

Dermatol Perú 2010; 20(4) 228-235

¹. Instituto de Investigaciones Clínicas-Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú.

². Instituto de Patología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú.

³. Hospital Regional de Pucallpa. Ucayali-Perú.

⁴. Puesto de Salud de Pueblo Libre. Ucayali-Perú.

⁵. Department of Dermatology. Virginia Commonwealth University, Richmond, VA, USA.

Recibido: 09-08-2010 Aceptado: 02-09-2010

ABSTRACT

OBJETIVE: Describe ultraestructural characteristics of the patients's skin with endemic pemphigus foliaceus (EPF) and endemic pemphigus vulgaris (EPV) from the peruvian amazonia. **MATERIAL AND METHODS:** Descriptive, prospective and observational study. Population was patients with endemic forms of pemphigus foliaceus and vulgaris from the Regional Hospital of Pucallpa (Ucayali), Hospital Amazonico (Ucayali) and National Hospital Dos de Mayo (Lima). Skin samples was obtained of the patients for a fraction for high resolution light microscopy (HRLM) and other for transmission electronic microscopy (TEM) to determinate the ultrastructural aspects, principally desmosoms. **RESULTS:** HRLM showed presence of subcorneal acantolisis in the 7 cases of EPF and suprabasal acantolisis in the 2 EPV patients. TEM done in EPF showed separation of cells in the corneal stratum in 57.1%, cells separation of the stratum spinosum in 28.6% and the basal strata in 71.4%. TEM in EPV patients showed cells separation in basal stratum and the stratum espinosum in 100%. Ultraestructural changes observed in both EPF and EPV were lost of desmosomic structure, loss of normal distribution of tonofilaments, enlarge of intercellular spaces.

CONCLUSIONS: There are no important differences between ultraestructural characteristic of EPF and EPV with their respective non endemic presentation; except the primary location of the acantolisis.

KEY WORDS: Endemic pemphigus foliaceus, endemic pemphigus vulgaris, ultraestructural characteristics.

INTRODUCCIÓN

El pénfigo foliáceo (PF) es una enfermedad autoinmune de la piel caracterizada por la presencia de ampollas superficiales subcorneales y autoanticuerpos de tipo IgG4 que son específicos para la región extracelular de la glicoproteína desmosomal desmogleína 1, encargada de la unión entre células epidérmicas⁽¹⁻⁵⁾. Existen dos formas de PF, una forma no endémica descrita por primera

vez en París en 1844 y una endémica (Fogo selvagem) descrita inicialmente en Brasil en 1903, ambas poseen similares características histológicas, clínicas e inmunológicas⁽⁵⁾, sin embargo existen características que son únicas de la forma endémica tales como las geográficas, antecedentes familiares, alta frecuencia en niños y jóvenes y una asociación con ciertos alelos HLA-DR^(7,8).

El pénfigo foliáceo endémico fue observado por primera vez en áreas rurales de Brasil; también ha sido reportado en Colombia, El Salvador, Paraguay, Perú, Venezuela y Túnez⁽⁹⁻²⁶⁾. Varias características epidemiológicas del PFE sugieren que la producción de autoanticuerpos estaría vinculada a la exposición a antígenos ambientales⁽²⁷⁻²⁹⁾ los cuales inducirían la producción de anticuerpos mediante una reacción cruzada con las células de la epidermis⁽³⁰⁾. Se encuentran en riesgo las personas expuestas a la ecología de los sitios endémicos que se sitúan en áreas rurales de la amazonía, de bajas condiciones socioeconómicas, en la vecindad de ríos o arroyos, de 500-800 m.s.n.m, a un radio de 10-15 Km de donde se ha localizado moscas negras del Género *Simulium*⁽²⁷⁻³⁰⁾.

El pénfigo vulgar (PV) constituye otra enfermedad autoinmune en la cual las ampollas se forman por encima de la capa basal de la epidermis (Acantolisis suprabasal) como consecuencia del desarrollo de autoanticuerpos IgG4 dirigidos contra la caderina desmosomal desmogleína 3⁽³¹⁻³³⁾. La forma clásica o no endémica (PVNE) puede aparecer a cualquier edad, pero es más frecuente entre la quinta y sexta décadas de la vida. Inicialmente se presenta con úlceras dolorosas en mucosa oral con afectación del paladar y la lengua debido a la presencia de anticuerpos anti desmogleína 3 pudiendo afectar también mucosa nasal, faríngea, laríngea y genital^(31,32,34), después de semanas o meses aparecen vesículas o ampollas flácidas usualmente en cuero cabelludo, cara, tórax y espalda debido a la expresión simultánea de anticuerpos anti desmogleína 1 y 3 con pérdida de la compensación. En las formas severas puede aparecer el signo de Nikolsky y si

las lesiones son extensas el paciente puede comportarse como un gran quemado, apareciendo complicaciones como infecciones, trastorno hidroelectrolítico falleciendo el 75 % en el primer año de enfermedad⁽³¹⁻³⁵⁾. Recientemente, Rocha-Alvárez y col (2007) han reportado en Brasil la existencia de una forma endémica de pénfigo vulgar (PVE) que se caracteriza clínicamente por un síndrome mucocutáneo pero con hallazgos epidemiológicos de PFE⁽³⁶⁾. La distribución por grupo etario es similar a la del PFE afectando a niños y adultos jóvenes a diferencia de la forma no endémica. En nuestro país, los autores hemos reportado casos de PVE en los departamentos de Ucayali y Loreto, los cuales tienen una respuesta rápida al tratamiento con corticosteroides a diferencia de la forma no endémica⁽³⁷⁾.

Estudios realizados para el PFE en Brasil han determinado las características ultraestructurales mediante microscopía electrónica en la piel observándose edema en los espacios intercelulares y alteraciones específicas en el complejo desmosoma-tonofilamento en la parte alta del estrato espinoso. Los queratinocitos acantolíticos mostraron vacuolización, mitocondrias tumefactas, internalización de desmosomas intactos y remanentes⁽³⁸⁾. Estudios realizados en PVNE mostraron ensanchamiento de los espacios intercelulares, separación de las uniones desmosomales, ruptura de los desmosomas y separación completa de los queratinocitos en la región suprabasal de la epidermis manteniendo su unión a la membrana basal. Existieron alteraciones en el complejo desmosoma-tonofilamento observándose retracción intercelular de los tonofilamentos los cuales se agruparon a nivel perinuclear⁽³⁹⁾.

Actualmente, no existen estudios en nuestro país que describan las características ultraestructurales de las formas clínicas endémicas de pénfigo foliáceo y vulgar motivo por el cual se plantea el siguiente estudio. El objetivo de nuestro trabajo fue describir las características ultraestructurales de la piel de pacientes con pénfigo foliáceo y

pénfigo vulgar en sus formas clínicas endémicas procedentes de la amazonía peruana.

MATERIAL Y MÉTODOS

TIPO DE ESTUDIO: Estudio descriptivo de tipo serie de casos realizado en el Hospital Nacional Dos de Mayo, en el Hospital Regional de Pucallpa y el Hospital Amazónico de Yarinacocha entre Enero y Diciembre del año 2008.

POBLACIÓN Y MUESTRA: La población estuvo constituida por los pacientes con las formas clínicas endémicas de pénfigo foliáceo y pénfigo vulgar captados en los hospitales participantes. Teniendo en cuenta que anualmente se presentan entre 4-8 casos/año de cada forma clínica de PFE en cada uno de los hospitales y 1-2 casos/año de pénfigo vulgar endémico, no se realizó muestreo debido a que la población es pequeña y accesible. Los pacientes fueron seleccionados de acuerdo a criterios de inclusión y exclusión:

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes con diagnóstico de PFE o PVE confirmado mediante histopatología y/o estudios inmunológicos.
- Pacientes nuevos, de diagnóstico reciente, sin tratamiento previo.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- No aceptar enrolarse voluntariamente en el estudio.
- Presencia de complicaciones graves o severas.

TÉCNICA Y MÉTODO:

Una vez captados los pacientes se realizó primero microscopía óptica de alta resolución (MOAR) y luego microscopía electrónica de transmisión (MET). Para esto, se obtuvo una muestra de piel mediante biopsia con punch de 4 mm. Las biopsias fueron fijadas en glutaraldehído al 3% y buffer fosfato 0.1 M pH 7.2. Luego de una hora de fijación se cortaron longitudinalmente en 2 a 4 secciones, se dejaron fijando en

glutaraldehído fresco por 24 horas a 4°C, luego se lavaron por tres veces con intervalos de 5 minutos cada uno; se postfijaron en Tetraóxido de Osmio (OsO₄) al 1% en tampón fosfato. Las muestras después de lavadas con solución tamponada, se deshidrataron con una batería de etanol en grado ascendente hasta alcohol absoluto, luego acetona pura, finalmente fueron embebidas e incluidas en Spurr y polimerizadas por 48 horas a 60°C. Se realizó cortes de 1 µm de espesor, en un ultramicrotomo Porter Blum MT2 con cuchilla de vidrio, se colorearon las secciones con azul de toluidina; después de escoger el área adecuada para la microscopía electrónica se procedió a realizar los cortes ultrafinos (90nm) que fueron recogidos en rejillas de cobre de 300 mesh, los cortes fueron contrastados con acetato de uranilo y citrato de plomo (Raynold 1963) para poder ser visualizados en un microscopio óptico (Microscopía óptica de alta resolución) y en un microscopio electrónico Philips EM300 de la Universidad Nacional de Ingeniería (UNI) Lima- Perú.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos fueron ingresados en una base de datos informática mediante el programa Excel para Windows. El análisis estadístico fue realizado con el programa SPSS v 17.0 para Windows. Se realizó estadística univariada obteniéndose frecuencias, porcentajes, medidas de tendencia central y de dispersión.

ASPECTOS ÉTICOS

Se incluyó a los pacientes que aceptaron enrolarse voluntariamente en el estudio, para lo cual firmaron un consentimiento informado. Se garantizó la confidencialidad de los datos y se respetó los derechos de los pacientes de acuerdo a lo estipulado en la Declaración de Helsinki.

RESULTADOS

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS PACIENTES

Se captó durante el período de estudio

un total de 7 casos de PFE de evolución crónica activa y 2 casos de PVE sin tratamiento con corticosteroides. Las características generales de los pacientes como edad y sexo fueron similares para el PFE y PVE (Tabla 1).

MICROSCOPIA ÓPTICA DE ALTA RESOLUCIÓN

La MOAR realizada con azul de toluidina a 1800 X mostró la presencia de acantolisis en el estrato espinoso (Figura 1) en los 7 casos de PFE y acantolisis suprabasal en los 2 pacientes con PVE. Las células acantolíticas observadas a 6000 X presentaban núcleo hipercromático y numerosas gotas lipídicas intracitoplasmáticas. Todos los pacientes con PFE y PVE mostraron angiogénesis en dermis papilar, engrosamiento de capilares (células endoteliales hipertróficas) y presencia de infiltrado inflamatorio.

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN (MET)

La MET realizada en los pacientes con PFE mostró separación de las células en el estrato córneo en el 57.1%, separación de las células del estrato espinoso en 28.6%, del estrato basal en el 71.4% así como por debajo de la membrana basal en el 14.3%. Las alteraciones ultraestructurales observadas en este grupo de pacientes fueron la pérdida de la distribución normal de los tonofilamentos (Figura 2) la cual fue muy marcada en 2 pacientes, ampliación de los espacios intercelulares, presencia de vacuolas con material granulado en los espacios intercelulares y citoplasma vacuolado las cuales fueron observadas en el 100 % de los pacientes. Otras alteraciones observadas fueron la pérdida de la estructura desmosómica (85.7%) (Figura 3), desorganización fibrilar (42.9%), inclusiones intracito-plasmáticas (14.3%), presencia de queratinocitos apoptóticos (28.6%), núcleos de bordes irregulares (14.3%), aumento de la heterocromatina (14.3%) y vacuolización nuclear (14.3%).

La MET de los pacientes con PVE mostró

TABLA 1: Principales hallazgos ultraestructurales de la piel de pacientes con PFE y PVE.

CODIGO	EDAD (AÑOS)	SEXO	TIPO DE PÉNFIGO	ACANTOLISIS	PÉRDIDA DE ESTRUCTURA DESMOSÓMICA	AMPLIACIÓN DE ESPACIOS INTERCELULARES	PÉRDIDA DE DISTRIBUCIÓN NORMAL DE TONOFILAMENTOS	DESORGANIZACIÓN FIBRILAR
PE1	31	F	PFE	Estrato córneo y basal	No	Sí	Sí	Sí
PE2	17	M	PFE	Estrato córneo y basal	Sí	Sí	Sí	No
PE3	15	M	PFE	Estrato basal	Sí	Sí	Muy marcada	Sí
PE4	15	F	PFE	Estrato espinoso y basal	Sí	Sí	Muy marcada	Sí
PE5	17	F	PFE	Estr. córneo, espinoso y basal	Sí	Sí	Sí	No
PE6	17	F	PFE	Estrato córneo y basal	Sí	Sí	Sí	No
PE7	20	F	PFE	Estrato córneo y espinoso	No	Sí	No	No
PE8	42	F	PVE	Estrato córneo y basal	Sí	Sí	Sí	Sí
PE9	35	F	PVE	Estrato córneo y basal	Sí	Sí	Sí	No

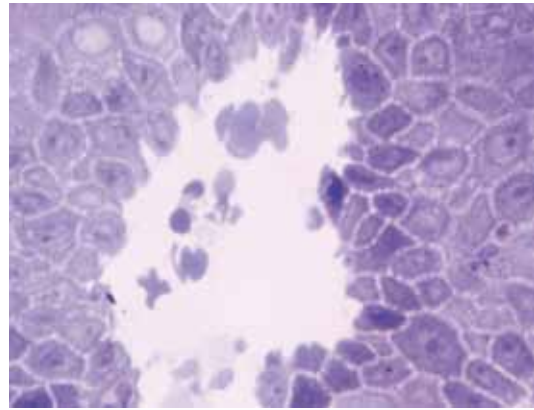


FIGURA 1: Microscopia óptica de alta resolución en PFE con azul de toluidina mostrando la separación de los queratinocitos del estrato espinoso (1800X).

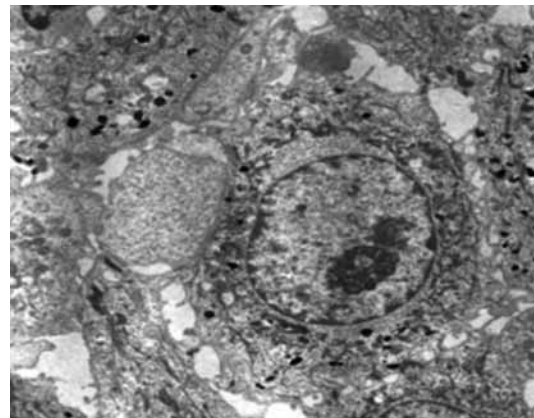


FIGURA 2: Microfotografía electrónica en PFE: queratinocitos del estrato espinoso con retracción de tonofilamentos alrededor del núcleo y ausencia de uniones intercelulares (11 700X).

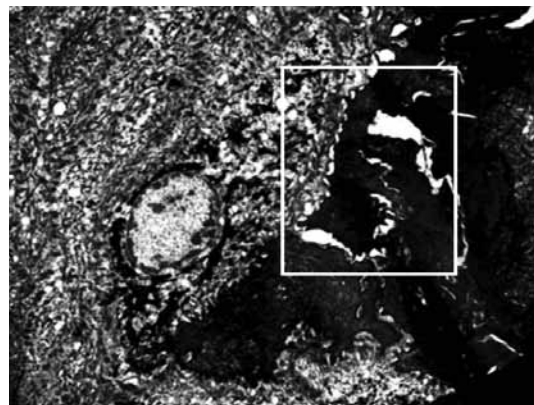


FIGURA 3: Microfotografía electrónica en PFE: células del estrato corneo y granuloso con pérdida de desmosomas (11 700x).

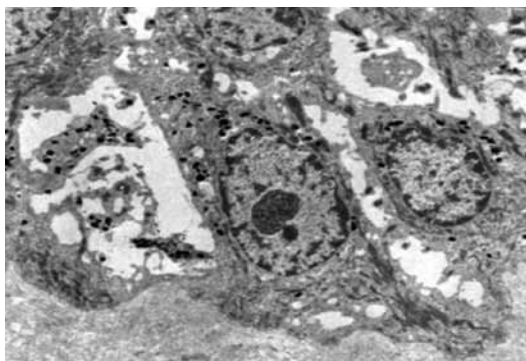


FIGURA 4: Microfotografía electrónica en PVE: queratinocitos del estrato basal, con gran separación de los bordes laterales y ampliación de los espacios intercelulares (9 000X).

separación de las células del estrato basal y del estrato córneo en el 100%. Las alteraciones ultraestructurales observadas en este grupo de pacientes fueron la pérdida de la estructura desmosómica, pérdida de la distribución normal de los tonofilamentos, ampliación de los espacios intercelulares (Figura 4), presencia de vacuolas con material granulado en los espacios intercelulares y citoplasma vacuolado las cuales fueron observadas en el 100 % de los pacientes. Otras alteraciones observadas fueron desorganización fibrilar (1 paciente), haloperinuclear (1 paciente), presencia de queratinocitos apoptóticos (1 paciente), núcleos de bordes irregulares (1 paciente) y aumento de la heterocromatina (1 paciente).

DISCUSIÓN

La presente investigación es la primera en Perú que presenta las características ultraestructurales de los pacientes con PFE y PVE, las cuales en términos generales son similares a las encontradas en piel y mucosas de pacientes de Brasil(38,39,40), país donde la enfermedad tiene mayor endemicidad. La presencia de acantolisis en la MOAR marca la diferencia entre PFE y PVE y permite confirmar el diagnóstico; la MET en cambio muestra las características ultraestructurales no observables en la MOAR y explicables por la teoría de la compensación de las cadherinas desmosomales⁽³¹⁻³³⁾.

La MET en el PFE muestra la separación

subcorneal de queratinocitos (acantolisis) aunque también en capas más profundas (incluyendo el estrato basal) de manera similar a lo reportado para el pénfigo foliáceo endémico de Brasil⁽³⁹⁾. Esto podría explicarse además de la presencia de anticuerpos anti desmogleína 1 por la presencia de anticuerpos anti desmogleína 3 que ha sido descrita en cerca de la tercera parte de los pacientes con PFE de Perú similar a lo descrito en Brasil. La desmogleína 3 es una caderina desmosomal que predomina en las capas profundas de la epidermis la cual al ser blanco de anticuerpos trae como consecuencia la separación de los queratinocitos de la capa basal de la piel^(31,32).

De manera análoga, los pacientes con PVE presentan en la MET acantolisis suprabasal observándose también acantolisis del estrato espinoso (no observable en la MOAR) probablemente porque una fracción de pacientes expresa de manera simultánea anticuerpos anti desmogleína 1 (con alguna acción patogénica) que atacan a las capas superficiales de la piel. Asimismo, se observan también alteraciones del complejo tonofilamento-desmosoma.

Los hallazgos descritos son similares a los reportados en otros países para sus formas no endémicas (o esporádicas) de pénfigo foliáceo y pénfigo vulgar; los cuales diferirían solamente en las características epidemiológicas de los pacientes mas no en las clínicas, histopatológicas e inmunopatológicas(38,39).

Una limitación del presente estudio es el número de pacientes participantes debido a su carácter preliminar; sin embargo, no se pretende demostrar una hipótesis sino mostrar ciertas características de la piel de los pacientes sin hacer generalizaciones poblacionales para lo cual el estudio cumple su objetivo.

En conclusión, los resultados preliminares muestran que las características ultraestructurales del PFE y PVE no presentan diferencias importantes en comparación con sus respectivas formas no endémicas.

Asimismo, el PFE y PVE no presentan diferencias ultraestructurales importantes salvo la localización primaria de la acantolisis.

CONFLICTO DE INTERESES

La presente investigación fue financiada por el Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos a través de la Unidad de Investigación de la Facultad de Medicina, que no tuvo influencia en el diseño del estudio, recolección, análisis o interpretación de los datos; así como en la preparación, revisión o aprobación del manuscrito. Los Dres. Carlos Galarza, Willy Ramos y Ericson L. Gutierrez pertenecen al Comité Editorial de la revista Dermatología Peruana.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Warren SJP, Arteaga LA, Rivitti EA, Aoki V, Hans-Filho G, Qaquish BF, et al. The role of IgG subclass switch in the pathogenesis of fogo selvagem. *J Invest Dermatol* 2003;120:104-8.
2. Warren SJP, Lin MS, Giudice G, Hoffman R, Hans-Filho G, Aoki V, et al. The prevalence of antibodies against desmoglein 1 in endemic pemphigus foliaceus in Brazil. *N Eng J Med* 2000;343:23-30.
3. Emery DJ, Diaz LA, Fairley JA, López A, Taylor AF, Giudice GP. Pemphigus foliaceus and pemphigus vulgaris autoantibodies react with the extracellular domain of desmoglein 1. *J Invest Dermatol* 1995;104:323-8.
4. Beutner EH, Prigenzi LS, Hale W, Leme C de A, Bier OG. Immunofluorescent studies of autoantibodies to intercellular areas of epithelia in Brazilian pemphigus foliaceus. *Proc Soc Exp Biol Med* 1968;127:81-6.
5. Roscoe JT, Diaz LA, Sampaio SAP, Castro RM, Labib RS, Takahashi Y, et al. Brazilian pemphigus foliaceus autoantibodies are pathogenic to BALB/c mice by passive transfer. *J Invest Dermatol* 1985; 85: 538-41.
6. Paes-Leme C. Contribuição ao estudo do Tokelau. Doctoral thesis. Rio de Janeiro, Brazil: Faculdade de Medicina 1903.
7. Moraes JR, Moraes ME, Fernandez-Viria M, Diaz LA, Friedman H, Campbell IT, et al. HLA antigens and risk for development of Pemphigus Foliaceus (Fogo Selvagem) in endemic areas of Brazil. *Immunogenetics* 1991;33:388-91.
8. Moraes ME, Fernandez-Viria M, Lazaro A, Diaz LA, Hans-Filho GH, Friedman H, et al. An epitope in the third hypervariable region of the DRB1 gene is involved in the susceptibility to Endemic Pemphigus Foliaceus (Fogo Selvagem) in three different Brazilian populations. *Tissue Antigens* 1997;49: 35-40.
9. Aranha-Campos J. Penfigo foliaceo (fogo selvagem). Aspectos clinicos e epidemiologicos. Comp. Melhoramentos de São Paulo. Brazil: Industrias de Papel, 1942.
10. Aranha Campos J. Invasão do Pénfigo Foliáceo na América do Sul. *Arq Dermat Sif* 1952;14:12-20.
11. Robledo MA, Prada S, Jaramillo D, Leon W. South American Pemphigus Foliaceus: study of an epidemic in El Bagre and Nechí, Colombia 1982 to 1986. *Br J Dermatol* 1988;118:737-44.
12. Abréu AM, Garfvinge G, Leon W, Abréu CE, Montoya F, Hardy DM, et al. Detection of Mercury and Other Undetermined Materials in Skin Biopsies of Endemic Pemphigus Foliaceus. *Am J Dermatopathol* 2003;25:384-91.
13. Hernandez-Perez E. Pemphigus in El Salvador. An eight-year study (1970-1977). *Int J Dermatol* 1979;18:645-8.
14. Aldama A, Alvarenga V, Arguello G, Mendoza G, Rivelli V. Pénfigo Foliáceo-Casuística paraguaya del periodo 90-95. *Med Cutan Iber Lat Am* 1996; 24: 235-40.
15. Aldama A, Correa J, Rivelli V, Mendoza G. Tipos y variantes de Pénfigo en el Hospital Nacional de Paraguay. Revisión de 70 casos. *Med Cutan Iber Lat Am* 2000;28:242-7.
16. Aldama A. Pénfigo foliáceo endémico en Paraguay (disertación). Buenos Aires: XV Congreso Ibero-Latinoamericano de Dermatología; 2003
17. Aldama A. Penfigo. Perfil clínico, epidemiológico y laboratorio de 45 casos del Hospital Nacional. Tesis. Asunción: Universidad Nacional de Asunción; 1997.
18. Aldama A, Gorostiaga G, Rivelli V, Mendoza G, Domínguez L. Pénfigo foliáceo endémico en menores de 20 años en Paraguay. *Dermatol Pediatr Lat* 2006; 4: 111-114.
19. Heimgartner E, De Heimgartner V. Experiencias en enfermedades dermatológicas endémicas en la selva peruana: Leishmaniasis y Pénfigo Foliáceo Endémico. *Med Cut ILA* 1976;1:1-6.
20. Castillo A, Maguiña C. Pénfigo Foliáceo variedad Fuego Salvaje en la Selva Peruana. *Bol Soc Per Med Int* 1993;6:65-7.
21. Galarza C, Ronceros G, Mendoza D, Sánchez G, Vilcarromero M, Ráez E y col. Pénfigo Foliáceo Endémico en el departamento de Ucayali-Perú. Reporte de 16 casos. *An Fac Med Lima* 2002;63:19-24.
22. De Amat F, Díaz J. Pénfigo Foliáceo Endémico en las comunidades de Vista Alegre y San Francisco (Ucayali - Perú) Octubre 2000-Septiembre 2001. Tesis Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2001.
23. González F, Sáenz AM, Cirocco A, Tacaronte

- IM, Fajardo JE, Calebotta A. Endemic Pemphigus Foliaceus in Venezuela: Report of Two Children. *Pediatric Dermatol* 2006;23:132-5.
24. Bastuji-Garin S, Souissi R, Blum L, Turki H, Noura R, Jomaa B, et al. Comparative epidemiology of pemphigus in Tunisia and France. Incidence of foliaceus pemphigus in young tunisian women. *Ann Dermatol Vereneol* 1996;123:337-42.
25. Bastuji-Garin S, Turki H, Mokhtar I, Noura R, Faza B, Jomaa B, et al. Possible Relation of Tunisian Pemphigus with Traditional Cosmetics: A Multicenter Case-Control Study. *Am J Epidemiol* 2002;155:249-56.
26. Kallel-Sellami M, Ben Ayed M, Mouquet H, Drouot L, Zitouni M, Mokni M, et al. Anti-desmoglein 1 Antibodies in Tunisian healthy subjects: arguments for the role of environmental factors in the occurrence of Tunisian Pemphigus Foliaceus. *Clin Exp Immunol* 2004;137:195-200.
27. Lombardi C, Borges PC, Chaul A, Sampaio SA, Rivitti EA, Friedman H, et al. Environmental risk factors in Endemic Pemphigus Foliaceus (Fogo Selvagem). The Cooperative Group on Fogo Selvagem Research. *J Invest Dermatol* 1992;98:847-50.
28. Aoki V, Millikan RC, Rivitti EA, Hans-Filho G, Eaton DP, Warren S, et al. Environmental Risk Factors in Endemic Pemphigus Foliaceus (Fogo Selvagem). *J Invest Dermatol Symp Proc* 2004;9:34-40.
29. Hans-Filho G, Aoki V, Rivitti EA, Eaton DP, Lin MS, Diaz LA. Endemic Pemphigus Foliaceus (Fogo Selvagem)-1998. *Clin Dermatol* 1999;17:225-35.
30. Eaton DP, Diaz LA, Hans-Filho G, Dos Santos VD, Aoki V, Friedman H, et al. Comparison of black fly species (Diptera Simuliidae) on an Amerindian reservation with a high prevalence of Fogo Selvagem to neighboring disease of free sites in the States of Matto Grosso do Sul, Brazil. The Cooperative Group on Fogo Selvagem Research. *J Med Entomol* 1998;35:120-31.
31. Stanley JR. Pemphigus. In: Freedberg IM, Eisen AZ, Wulff K, Austen KF, Goldsmith LA, eds. *Fitzpatrick's dermatology in general medicine*. New York: McGraw Hill, 1999: 654.
32. Bystryjn JC, Rudolph JL. Pemphigus. *Lancet* 2005; 366: 61-73.
33. Sitaru C, Mihai S, Zillikens D. The relevance of the IgG subclass of autoantibodies for blister induction in autoimmune bullous skin diseases. *Arch Dermatol Res* 2007; 299: 1-8.
34. Hale EK, Bystryjn JC. Laryngeal and nasal involvement in pemphigus vulgaris. *J Am Acad Dermatol* 2001; 44: 609-11.
35. Yeh SW, Ahmed B, Sami N, Ahmed AR. Blistering disorders: diagnosis and treatment. *Dermatol Ther* 2003; 16: 214-23.
36. Rocha-Alvarez R, Ortega-Loayza AG, Friedman H, Campbell I, Auki V, Rivitti EA, Dasher D, Li N, Diaz LA. Endemic pemphigus vulgaris. *Arch Dermatol* 2007; 143: 895-9.
37. Galarza C, Ramos W, Jiménez G, Ronceros G, Gutiérrez E, Hanco J, et al. Pénfigo vulgar endémico en Perú: estudio retrospectivo. *An Fac Med Lima* 2007; 68 (Supl 1): S52.
38. Takahashi Y, Patel HP, Labib RS, Diaz LA, Anhalt GJ. Experimental induced pemphigus vulgaris in BALB/c mice: A time-course study of clinical, immunologic, ultrastructural and cytochemical changes. *J Invest Dermatol* 1985; 8441-6.
39. Futamura S, Martins C, Rivitti EA, Labib RS, Diaz LA, Anhalt GJ. Ultrastructural studies of acantholysis induced in vivo by passive transfer of Immunoglobuline G from endemic pemphigus foliaceus (Fogo selvagem). *J Invest Dermatol* 1989;93:480-5.
40. Guedes AC, Rotta O, Leite HV, Leite VH. Ultrastructural aspects of mucosas in endemic pemphigus foliaceus. *Arch Dermatol* 2002;138:949-54.

Correspondencia para el autor:

Dr. Carlos Galarza Manyari.
Instituto de Investigaciones Clínicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
Dirección: Parque "Historia de la Medicina Peruana" S/N, Lima 01. Perú.
TEL: (51-1) 328-4748.
Correo electrónico: investcl@yahoo.com.