

01674
13



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCION Y DE LA SALUD ANIMAL

PREVALENCIA DE LA ATROFIA PROGRESIVA DE LA RETINA EN PERROS DE UNA POBLACION OFTALMOLOGICA

T E S I S
PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
P R E S E N T A :
S I M O N E I W A B E

TUTOR: GUSTAVO ADOLFO GARCIA SANCHEZ
COMITE TUTORAL: ROGELIO ALONSO MORALES
GABRIEL GUIZAR SAHAGUN



MEXICO, D. F.

2003

A



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIA

A MIS PADRES

LES DEDICO ESTA TESIS POR TODO EL APOYO Y LA CONFIANZA EN MI, POR EL AMOR INCONDICIONAL QUE ME DEDICARON, POR SIEMPRE CREEREN EN MI CAPACIDAD Y AYUDAR A ALCANZAR MIS METAS Y MIS SUEÑOS. LOS AMO MUCHO.

A MIS HERMANITAS CRISTINA, CAROL, ACÁCIA Y LETICIA:

AUNQUE LEJOS SIEMPRE LAS TUVE "CERCA" A MI LADO. GRACIAS POR EL GRAN APOYO EN TODOS LOS MOMENTOS Y POR HACEREN PARTE DE MI VIDA. LAS AMO MUCHO.

A MI TUTOR GUSTAVO ADOLFO GARCÍA SÁNCHEZ:

DOC. GRACIAS POR ENSEÑARME LAS MARAVILLAS DE LA OFTALMOLOGIA, POR CREER EN MÍ, POR SU APOYO EN TODOS LOS MOMENTOS. GRACIAS POR SER MI MAESTRO, MI TUTOR Y MI AMIGO. LO QUIERO MUCHO.

A MIS AMIGOS:

PAULO, UN AMIGO MÁS QUE ESPECIAL PARA MÍ. GRACIAS POR TU APOYO ILIMITADO, POR ESTAR "SIEMPRE" A MI LADO, POR TODOS LOS BELLOS MOMENTOS, POR SER MI AMIGO Y HERMANO. TE QUIERO MUCHO.

AMIGUITAS ASSENETH Y SANDY. POR BRINDARME SUS AMISTADES, POR APOYARME TANTO Y POR COMPARTIEREN MOMENTOS TAN IMPORTANTES DE MI VIDA. LAS QUIERO MUCHO, MUCHO MISMO.

OFM, NO HAY DUDAS QUE SIN TU AYUDA NO HABRÍA LLEGADO HASTA AQUÍ. TE DEDICO ESTA TESIS CON TODO MI CARÍÑO Y AGRADECIENDO POR SER MI AMIGO TAN QUERIDO Y ESPECIAL. TE QUIERO MUCHO. DEMB.

FABI, KRISTA, NATHALY, DIANA, ALEX, PACO, CHAPIS, ANGEL, POR HACEREN PARTE DE UN MOMENTO MUY ESPECIAL PARA MI, GRACIAS POR TODO EL CARÍÑO Y APOYO. LOS QUIERO MUCHÍSIMO.

RENATO, ANDREA, TANO Y RENATA, POR ME ADOPTAREN COMO PARTE DE LA FAMILIA. CON MUCHO CARÍÑO. GRACIAS.

A TODOS MIS AMIGOS QUE ME APOYARON Y HICIERON POSIBLE LA REALIZACIÓN DE ESTA TESIS. GRACIAS.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas,
UNAM a difundir en formato electrónico e impreso,
contenido de mi trabajo recepcionado

NOMBRE: SINIGUE IURIBE

FECHA: 15/08/2023

FIRMA: Paulo B. Tano

B

AGRADECIMIENTOS

A MI TUTOR GUSTAVO ADOLFO GARCÍA SÁNCHEZ, POR SIEMPRE CREER EN MI Y SER UN VERDADERO MAESTRO.

A MI COMITÉ TUTORAL Y MI JURADO:

DR. ROGELIO ALONSO MORALES, DR. GABRIEL GUIZAR SAHAGÚN, DR. FRANCISCO TRIGO TAVERA Y DR. JOAQUÍN AGUILAR BOBADILLA, GRACIAS POR LA AYUDA. PUES SUS PUNTOS DE VISTA ENRIQUECIERON EL PRESENTE TRABAJO

A LA Dra. ADRIANA DUCOING, POR SU GRAN AYUDA CON EL ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y DISCUSIÓN DE ESTE TRABAJO.

A TODO EL PERSONAL DEL LABORATORIO DE GENÉTICA, ESPECIALMENTE A REFÚGIO, POR EL APOYO PARA REALIZAR PARTE DE ESTE TRABAJO.

AL DR. FLORES COVARRUBIAS DE LA SECRETARIA DE POSGRADO DE LA UNAM POR SU APOYO Y MANTENERME SIEMPRE INFORMADA.

A ANGÉLICA DORANTES, POR LA GRAN AYUDA CON TODOS LOS TRÁMITES DE LA BECA DE DGEPI.

A LA FEDERACIÓN CANÓFILA MEXICANA, POR PERMITIR EL ACCESO A INFORMACIONES MUY VALIOSAS PARA LA CONCLUSIÓN DE ESTE TRABAJO.

C

**PREVALENCIA DE LA ATROFIA PROGRESIVA DE LA RETINA EN
PERROS DE UNA POBLACIÓN OFTALMOLÓGICA**

INDICE	i
I. RESUMEN	ii
II. ABSTRACT	iii
III. INTRODUCCIÓN	1
1.0- Anatomía de la retina	2
2.0- Atrofia progresiva de la retina	3
2.1 - Atrofia Progresiva de la Retina de manifestación temprana	4
2.1.1. Raza Setter Irlandés – Displasia de los conos y bastones tipo 1 (rcd-1)	5
2.1.2. Raza Collie–Displasia de los conos y bastones tipo 2 (rcd-2)	7
2.1.3. Raza Cardigan Welsh Corgi – Displasia de los conos y bastones tipo 3 (rcd-3)	8
2.1.4. Raza Dachshund Miniatura Pelo Largo – Atrofia Progresiva de la Retina	9
2.1.5. Raza Cazadores de Alces Noruegos – Degeneración Temprana de la Retina (erd)	9
2.1.6. Raza Malamute de Alaska – Degeneración de los Conos (cd)	10
2.2 - Atrofia Progresiva de la Retina de manifestación tardía	10
2.2.1. Raza Schnauzer Miniatura - Displasia de los fotorreceptores	11
2.2.2. Raza Sloughi – Atrofia Progresiva de la Retina	12
2.2.3. Otras Razas – Atrofia Progresiva de la Retina	12
3.0 - Genes candidatos a la Atrofia Progresiva de la Retina	15
4.0 - Bases de la electroretinografía	18
IV. HIPÓTESIS	22
V. OBJETIVOS	22
VI. MATERIAL Y MÉTODOS	23
VII. RESULTADOS	27
VIII. DISCUSIÓN	30
IX. REFERENCIAS	37
X. FIGURAS	45
XI. CUADROS	49

I. RESUMEN

Los perros pueden sufrir de una enfermedad degenerativa heredada y progresiva de la retina que culmina con la ceguera total del animal. Esta enfermedad es en realidad muy heterogénea genéticamente y en conjunto se le denomina como Atrofia Progresiva de la Retina (APR). El grupo homólogo de enfermedades degenerativas en humanos se denomina Retinitis Pigmentosa (RP) cuya herencia también involucra varios genes. Otra especie de mucha importancia para la investigación es el ratón cuya degeneración de la retina (rd) tiene manifestación muy similar a la APR y a la RP.

La APR ha sido bien caracterizada a nivel molecular en algunas razas en donde se identificaron mutaciones distintas en el gen de la fosfodiesterasa 6. Varios genes ya han sido descartados, sin embargo una cantidad considerable de genes candidatos todavía faltan que sean investigados.

El propósito de este trabajo consiste en evaluar la prevalencia de la APR en una población de perros de distintas razas, identificándolos a través del examen oftalmológico y electroretinografía (ERG), confirmar el uso del ERG como método diagnóstico de la APR, así como discutir los posibles genes candidatos causantes de la enfermedad y plantear soluciones para su control.

Se utilizó una población canina (1508 animales) de distintas razas y edad variada que comparecieron al Hospital Veterinario de Especialidades en el periodo comprendido de enero a julio del 2002. Fueron divididos en tres grupos distintos y sometidos a un examen clínico oftalmológico completo, del fondo ocular y electroretinografía encontrando que 30.2% (456/1508) eran debido a problemas oftalmológicos, y que de estos 3.9% (18/456) diagnosticados con atrofia progresiva de la retina. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) en la prevalencia de la enfermedad entre machos y hembras. El análisis de los datos obtenidos en el ERG (Grupo I-A vs. Grupo III, $p < 0.000$) demostró que el examen es un método de diagnóstico eficiente y confiable para la medición de la actividad eléctrica de la retina.

Palabras - clave: atrofia, retina, perros, fosfodiesterasa.

II. ABSTRACT

Dogs can suffer from an inherited degenerative and progressive retinal disease that culminate in total blindness. This disorder is genetically very heterogeneous and it is in general called Progressive Retinal Atrophy (PRA). The human counterpart of this degenerative disease is the Retinitis Pigmentosa (RP) which inheritance also involve many genes. Another specie with great importance for research is the mouse, whose Retinal Degeneration (rd) has similar manifestation to PRA and RP.

The PRA has been well characterized at molecular level in some breeds where distinct mutations have been identified in the phosphodiesterase 6 gen. Many genes have already been excluded, although a considerable quantity of others genes still have to be researched.

The objective of this study is to evaluate the prevalence of PRA in a distinct dogs breeds population identifying them through a complete ophthalmic exam and electroretinography (ERG), to confirm the ERG as a diagnostic method of PRA, to discuss those possible candidate genes that can cause the disease and to present some solutions to control the PRA.

In this study we used 1508 animals from different breeds and age that attended the Veterinary Hospital of Specialities from January to July of 2002. All animals were divided in three different groups and underwent a complete ophthalmic exam, fundoscopy and electroretinography, where were found that 30,2% (456/1508) were due to ophthalmic problems and from this 3,9% (18/456) were diagnosed with progressive retinal atrophy. There was no statistical differences ($p>0,05$) in the prevalence of the disease between males and females. The analysis of the results from the ERG (group I-A vs. group III, $p<0,05$) showed that this exam is an efficient and reliable diagnostic method to measure the retina electrical activity.

Key – words: atrophy, retina, dogs, phosphodiesterase.

III. INTRODUCCIÓN

La ceguera es una de las enfermedades más temidas tanto en humanos como en los animales. Dentro de las enfermedades que pueden culminar en la ceguera total en los animales encontramos la atrofia progresiva generalizada de la retina canina (APRg), que consiste en un grupo de enfermedades heredadas de la retina que comparten signos oftalmológicos similares ⁽¹⁾.

Los perros presentan una ceguera nocturna como primer signo clínico, seguido de una pérdida progresiva de la visión diurna hasta la ceguera total. La edad de aparición de la APR varía entre las diferentes formas de manifestación de la enfermedad. Los de apareamiento temprano se clasifican como displasia de los fotorreceptores, mientras que las otras manifestaciones que se desarrollan durante la maduración de la retina son clasificadas como degeneración de los fotorreceptores ⁽¹⁾.

La APR comparte características fenotípicas similares a la Retinitis Pigmentosa, una de las más importantes causas de ceguera heredada en humanos ^(2,3,4). Otra especie igualmente afectada y de mucha importancia para la investigación es el ratón, cuya enfermedad denominada degeneración de la retina (DR) involucra mutaciones en genes como la periferina/RDS ⁽³⁾ y la fosfodiesterasa 6 ^(5,6,7).

Los cambios degenerativos de las capas de la retina son más evidentes en los estadios tardíos de la enfermedad. Estudios iniciales reportaron la correlación de la atrofia progresiva de la retina (APR) con mutaciones en el gen de la fosfodiesterasa 6 en perros de la raza Setter Irlandés ^(8,9,10,11,12,13), Cardigan Welsh Corgi ^(14,15) y Sloughi ⁽¹⁶⁾ que conducen a un defecto en el metabolismo de la guanosina monofosfato cíclico (GMPc) ⁽¹⁷⁾. Esta anomalía en el metabolismo del GMPc lleva a cambios degenerativos en la morfogénesis de los bastones durante la diferenciación de la retina en el período posnatal, alterando la actividad de la retina y consecuentemente el ERG ⁽¹⁸⁾.

Investigaciones posteriores permitieron la secuenciación de la FDE 6 y la identificación de mutaciones en las subunidades α y β , lo cual derivó en el desarrollo de una prueba diagnóstica basada en la ampliación de este fragmento de DNA mediante la Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ^(8,11,19). Este mismo gen ya fue excluido como

PAGINACIÓN DISCONTINUA

causante de la APR en los Cocker Spaniel, French Poodle, Collie, Labrador, Yorkshire Terrier, Schnauzer Miniatura y Dachshund ^(10,16)

Debido a que la APR es un problema común en perros, pero todavía de poco conocimiento público, este proyecto tiene como objetivo evaluar la prevalencia de la APR en una población de perros de distintas razas, identificándolos a través del examen oftalmológico y electroretinografía, confirmar el uso de la electroretinografía como método diagnóstico de la APR, así como discutir los posibles genes candidatos causantes de la enfermedad y plantear soluciones para su control.

1.0 Anatomía de la retina

Anatómicamente está compuesta por 10 capas, descritas a partir de la capa más externa hacia más interna que está en contacto con el vítreo ^(1,20,21)

- Epitelio pigmentado
- Capa de fotorreceptores - Capa donde encontramos el cuerpo celular de los conos y bastones, que son responsables de la visión. En esta capa se inicia la fotoquímica de la visión. (Figura 1)
- Membrana limitante externa.
- Capa nuclear externa.
- Capa plexiforme externa.
- Capa nuclear interna.
- Capa plexiforme interna.
- Capa de células ganglionares.
- Capa de fibras nerviosas.
- Membrana limitante interna.

2.0 Atrofia progresiva de la retina

El término atrofia progresiva de la retina (APR) incluye todas las afecciones degenerativas heredadas de la retina que comparten signos clínicos y oftalmológicos similares y presentan modo de herencia autosomal recesiva. Estas afecciones primarias de los fotorreceptores pueden ser divididas en dos grupos principales: APR de manifestación temprana y usualmente de rápida evolución (displasia de los conos, de los bastones y de los conos-bastones) y APR de manifestación tardía, normalmente con una evolución más lenta de la degeneración de la retina ⁽²²⁾

Es una enfermedad bilateral donde la ceguera nocturna es la primera manifestación reportada por el propietario, la cual evoluciona hacia una pérdida de visión diurna hasta la ceguera total. En estadios tempranos se observan oftalmoscópicamente algunos cambios en la refractilidad del tapetum y una suave atenuación de los vasos periféricos de la retina. Con el desarrollo de la enfermedad, los cambios en el tapetum se tornan más evidentes y generalizados así como la disminución vascular. En estadios tardíos se evidencian áreas hiperrefráciles por todo el tapetum, un cierto grado de despigmentación en el fondo no-tapetal y una atrofia de la cabeza del nervio óptico. Los reflejos pupilares se tornan progresivamente más lentos, sin embargo en muchos casos de APR se queda un remaneciente de reflejo. La atenuación vascular es muy evidente en algunos casos, en donde el contorno de los vasos (vasos fantasmas) es apenas visible principalmente en la región central. La formación de catarata secundaria es una característica común en perros en estadios avanzados de la APR ^(1,23) (Figura 2)

El grupo homólogo de enfermedades degenerativas en humanos se denomina Retinitis Pigmentosa (RP), cuya herencia parece involucrar varios genes ^(9,10,24,25,26). Las mutaciones causantes más probables son encontradas en los loci de tres genes principales: la rodopsina ^(2,3,27), la FDE6 β ^(4,28) y la periferina-RDS ⁽³⁾. El gen FDE6 β contiene el segundo locus humano, después del gen de la rodopsina, en que han sido encontradas mutaciones causantes de la RP ^(4,28). Reportes anteriores han descrito 4 mutaciones diferentes, siendo dos mutaciones sin sentido, una mutación con pérdida de sentido y una

mutación por delección de un par de base, enseñando una gran heterogeneidad de la enfermedad en humanos ⁽¹⁰⁾.

Otra especie de mucha importancia para la investigación es el ratón, cuya enfermedad denominada degeneración de la retina (DR) es muy similar a la RP en humanos y a la displasia de los cono y bastones (rd1) del Setter irlandés involucrando mutaciones en genes como la periferina /RDS ⁽³⁾ y la fosfodiesterasa 6 ^(5,6,7,29,30).

Entender el desarrollo de los fotorreceptores es un punto muy importante en el auxilio de la búsqueda de tratamientos para las enfermedades degenerativas. La identificación de las moléculas que están involucradas y sus funciones nos permiten una mejor comprensión de como ocurren los procesos degenerativos. Como la participación de la rodopsina o de la periferina/RDS en la integridad estructural y en el proceso de maduración de la retina, proteínas que cuando presentan una mutación de forma homocigota repercuten en una mala formación del segmento externo ⁽³¹⁾. De esta manera logramos una mejor comprensión si el gen defectuoso se expresa únicamente en las células de la retina o se trata de un gen cuyo producto tiene importante participación en la función del metabolismo celular de la misma, caracterizando las diversas degeneraciones heredadas de la retina existentes ⁽³²⁾.

2.1 Atrofia Progresiva de la Retina de manifestación temprana

La APR de manifestación temprana también puede ser definida como displasia, un desarrollo anormal congénito de la retina, cuyos cambios empiezan a manifestarse en los primeros meses de edad. En este grupo de enfermedad podemos incluir las siguientes razas: Setter Irlandés, Collie, Cardigan Welsh Corgi, Dachshund, Malamute de Alaska y el Cazador de Alces Noruegos. Esta definición se debe a que las primeras manifestaciones clínicas son observadas en las primeras semanas de edad y la ceguera total ocurre en los primeros años de vida ⁽¹⁾.

2.1.1. Raza Setter Irlandés – Displasia de los conos y bastones tipo 1 (rcd-1)

La atrofia progresiva de la retina está bien caracterizada a nivel molecular en perros de la raza Setter Irlandés. En estos animales se identificó una mutación sin sentido (de una base nitrogenada G para una A) en el gen de la fosfodiesterasa 6 subunidad β como causante de la enfermedad denominada displasia de los conos y bastones tipo 1 (rcd-1) de herencia autosómica recesiva ^(9,33).

En los perros afectados el desarrollo de la retina y de los fotorreceptores es normal hasta los 13 días de edad, cuando empieza la diferenciación de los fotorreceptores principalmente de los bastones ⁽⁹⁾. La degeneración es evidente cerca del primer mes de edad, con todos los fotorreceptores bastones estando degenerados alrededor de los 4-5 meses de edad, momento en que los primeros signos oftalmológicos son visibles. El estadio final en donde son observadas la degeneración de los fotorreceptores y los cambios atróficos generalizados ocurren sobre el primer año de edad ^(8,9).

Investigaciones anteriores reportan que a los 20 días de edad ya se observan problemas en la diferenciación de los segmentos externo e interno de los bastones, reflejando en estructuras desorganizadas y desorientadas, con una reducción en el grado de renovación de los fotorreceptores desde etapas tempranas de la enfermedad ⁽³⁴⁾.

Las primeras alteraciones en el ERG son visibles a las 6 semanas de edad, periodo en que ya se observan una ausencia de respuesta de los bastones y una respuesta residual anormal de los conos con una amplitud disminuida y tiempo retrasado. Ya no se observa actividad en la retina a las 18 semanas de edad, siendo el ERG considerado un importante método diagnóstico temprano de la enfermedad ⁽¹⁾.

Diversos estudios realizados en perros Setter Irlandeses reportan la frecuencia de la mutación en el gen de la fosfodiesterasa 6 subunidad β (FDE6 β) ^(8,10,23,33). Esta mutación en el codon 807 es definida como sin sentido (de la base nitrogenada G por una A) pues converge el aminoácido TGG para TAG, transformándolo en un codon de paro y truncando la síntesis de la proteína de la subunidad β ⁽⁹⁾.

Esta diferenciación resulta en un metabolismo anormal de la guanosina 3,5'-monofosfato cíclico (GMPc) segundo mensajero en la señal de la visión ⁽³⁵⁾ que es

degradado por la FDE, misma que es activada por la proteína G transducina ^(36,37). Aproximadamente a los 10 días de edad, una actividad deficiente de la FDE6 β permite una elevación en los niveles de GMPc en la retina a concentraciones 10 veces mayor que la normal ^(10,33). Otra investigación reporta un aumento de hasta 29 veces del GMPc específicamente en células de la capa plexiforme externa de la retina ⁽³⁸⁾. Esta anomalía no es observada en otros tejidos de los animales afectados como en el hígado y en el cerebro, sugiriendo que esta alteración en el metabolismo del GMPc sea restringido a las células de la retina ⁽¹²⁾. Tampoco fueron observadas diferencias en los niveles del GMPc en retinas de animales afectados comparados con retinas normales en edades más tempranas. El mismo estudio observó que sólo cuando la degeneración de los fotorreceptores y de la capa nuclear externa es extensa el GMPc reduce a niveles comparables a la normalidad ⁽³⁹⁾.

Hallazgos posteriores identificaron una reducción en los niveles de RNAm de la FDE6 β antes que cualquier evidencia bioquímica o en los signos patológicos de la enfermedad ⁽¹⁰⁾. Los niveles del RNAm de la FDE6 β se encuentran reducidos en retinas afectadas predegeneradas de ratones con degeneración de la retina (rd) de manera similar en los Setters Irlandeses con displasia de los conos y bastones tipo 1 (rcd-1) ^(5,6,13,29). Este antecedente demuestra que ambas enfermedades comparten anomalías en la hidrólisis del GMPc, sin embargo difieren en cuanto al mecanismo que causa la actividad deficiente de la FDE debido a que el complejo FDE en las células visuales de los ratones se encuentra ausente o anormal desde el momento de la diferenciación celular hasta la degeneración ⁽⁴⁰⁾.

Estudios recientes confirman que los perros afectados presentan únicamente una mutación en el codón 807, exon 21 del gen para la FDE6 β ^(8,9,33).

Mutación que no está presente en los Terriers Tibetanos y en los Dachshund Miniatura Pelo Largo afectados con APR, ilustrando la gran heterogeneidad de la enfermedad entre las diferentes razas ⁽⁸⁾.

La secuenciación del gen FDE6 β normal permitió la identificación de mutaciones puntuales en una porción del gen. Tres sustituciones no alteran la secuencia de los aminoácidos: una T por una C en la posición 267, una G por una A en la posición 606 y una T por una C en la posición 609 ⁽³³⁾. La otra sustitución de una G por una A en la posición

807 genera la porción mutante, lo cual derivó en el desarrollo de varios estudios basado en el DNA para una rápida identificación de los animales afectados ^(8,19)

El estudio de RCP (Reacción en Cadena de la Polimerasa) consiste en ampliar la porción del exon 21 del gen FDE6 β a partir de una muestra sanguínea. El mismo fragmento es posteriormente sometido a una reacción de digestión completa con enzimas endonucleasas de restricción, generando fragmentos distintos de tamaños menores de acuerdo con la enzima utilizada ^(8,10,23,33). Otro estudio denominado Polimorfismo Conformacional de Doble Cadena (Double Strand Conformational Polymorphism – DSCP) se mostró eficiente en la detección de individuos heterocigotos, sin embargo los homocigotos normales o afectados no pudieron ser diferenciados ^(10,11,33). El ASPCR (PCR alelo-específico) es otra prueba diagnóstica que fue desarrollada para una detección rápida y barata que proporciona la determinación directa del genotipo por la presencia o ausencia de fragmentos de diferentes tamaños ⁽¹⁹⁾. El análisis de ligamiento refuerza la relación de la rcd-1 y la mutación en el codon 807 de la FDE6 β canina ⁽¹⁰⁾.

2.1.2. Raza Collie – Displasia de los conos y bastones tipo 2 (rcd-2)

Presenta las mismas bases clínica, electrofisiológica, morfológica y bioquímica que la rcd-1 ⁽¹⁾. Se observa igualmente un incremento rápido y temprano de los niveles de GMPc en la retina en el periodo postnatal, aunque hay evidencias de que el decline del GMPc en la retina y la muerte de los fotorreceptores ocurre más rápido en la rcd-2 que en la rcd-1 ⁽⁴¹⁾.

Investigaciones posteriores auxiliadas por el conocimiento de la mutación de la rcd-1 y el desarrollo de una prueba diagnóstico molecular comprobaron que esta alteración no se encuentra presente en la rcd-2, evidenciando que la rcd-1 y la rcd-2 presentan mutaciones en diferentes genes ⁽⁸⁾. En otro estudio realizado en donde animales afectados con rcd-1, rcd-2 y erd fueron cruzados, produjeron camadas normales al ERG y en los análisis morfológicos y bioquímicos, demostrando que no hay alélismo entre los tres genes ^(41,42). Se excluyen también las 4 subunidades que conforman el complejo FDE6 a través de pruebas de análisis de ligamiento como causantes de la enfermedad en los Collies ^(24,42).

2.1.3. Raza Cardigan Welsh Corgi – Displasia de los conos y bastones tipo 3 (red-3)

Clasificada de enfermedad de manifestación temprana debido a que los perros afectados presentan alteración de la visión en la oscuridad alrededor de los 3 meses de edad. La ceguera total ocurre al año de edad, estadio en que la retina de encuentra hiperrefrácil y con acentuada atenuación de los vasos ⁽¹⁾. La APR en esta raza fue registrada por la primera vez en literatura en 1972 ⁽¹⁴⁾.

El estudio realizado a través del análisis de Polimorfismo Conformacional de Cadena Simple (Single Strand Conformational Polymorphism – SSCP) encontró un polimorfismo en el intron 18 de la FDE6 α en todos los animales examinados normales, incluyendo los afectados con APR. Se observó también que todos los animales afectados eran homocigotos para uno de los alelos (b), así como todos los obligatoriamente portadores presentaban por lo menos una copia del mismo alelo. La posterior secuenciación del gen de un animal enfermo permitió el análisis de toda su estructura y reveló que el tamaño de todos los intrones era idéntico tanto en los animales afectados como en los normales. Sin embargo la observación de los exones demostró la delección de 1 par de bases en el codon 616, exon 15 que produce un codon de paro prematuro en la posición 644 siendo señalado como causante de la enfermedad ⁽¹⁴⁾.

En un análisis realizado en Inglaterra en donde se utilizaron 31 animales oftalmológicamente normales se encontraron 4 portadores de la mutación representando una frecuencia de 6.5% del alelo mutado. El apareamiento de nuevos casos sucedidos en Holanda, Nueva Zelanda y Estados Unidos llevó al encuentro de una línea en común proveniente de Inglaterra ⁽¹⁴⁾.

Un estudio posterior desarrolló una prueba diagnóstica para una rápida detección de la mutación. Se utilizaron 500 perros de estado APR desconocida y con el ASPCR (Reacción en cadena de la polimerasa alelo específica) encontraron que 91.4% eran homocigotos normales y 8.6% eran portadores de la mutación, no siendo encontrados animales positivos a la enfermedad. En dicho estudio se analizaron aproximadamente 5% de la población de Cardigan Welsh Corgi registrados en el American Kennel Club de los

Estados Unidos, asumiendo que un promedio de 9500 animales se encontraban registrados en el año de 1999 cuando fue realizado el estudio ⁽¹⁵⁾.

2.1.4. Raza Dachshund Miniatura Pelo Largo – Atrofia Progresiva de la Retina

Enfermedad también de herencia autosomal recesiva cuyos primeros signos clínicos oftalmológicos ocurren a los 6 meses de edad con la pérdida de la visión nocturna. El ERG enseña alteraciones en las ondas a partir de las 10 semanas de edad ⁽¹⁾. Aunque la enfermedad se manifiesta de manera temprana puede haber una gran variación en la edad con respecto al apareamiento de la misma y su avance en cachorros de una misma camada ^(1,43).

2.1.5. Raza Cazadores de Alces Noruegos – Degeneración Temprana de la Retina (erd)

Enfermedad de manifestación temprana que se diferencia de las demás por no existir un metabolismo cíclico anormal en la retina. Este padecimiento se caracteriza por un desarrollo anormal de los fotorreceptores posteriormente al nacimiento, hecho que es seguido por una degeneración funcional y estructural de la retina. Perros afectados presentan ceguera nocturna a las 6 semanas de edad, quedándose ciegos a los 12 a 18 meses de edad. Los primeros cambios en el ERG son detectados a los 30 días en donde se observa una onda b de menor amplitud ⁽⁴⁴⁾. La actividad de los bastones es ausente en el ERG a los 51 días de edad, periodo en que la retina logra alcanzar la madurez. Cambios en los conos son observados relativamente tarde en la enfermedad ⁽⁴⁵⁾.

Una investigación posterior demuestra el no alelismo del gen causante de la erd con los genes de la rcd-1 y rcd-2, debido a que cruce programados de animales afectados produjeron camadas fenotípicamente normales ⁽⁴¹⁾.

2.1.6. Raza Malamute de Alaska – Degeneración de los Conos (cd)

Enfermedad degenerativa de la retina que acomete sólo los conos provocando hemeralopia congénita (pérdida de visión diurna). El animal presenta severa pérdida de visión durante el día o en ambientes de intensa luminosidad a partir de las 8 a 10 semanas de edad, sin embargo la visión nocturna nunca se altera. No hay cambios morfológicos en la retina y los reflejos pupilares se mantienen normales en un ambiente con luz o en la oscuridad. Estudios reportan una ausencia selectiva de la expresión temprana de la β -3 transducina en el segmento externo de los conos en animales ya afectados o que aún estén en la etapa inicial de la degeneración celular. Sin embargo la sustitución de un nucleótido (T para C) en la posición 454 observado en los animales afectados fue también encontrada en animales normales, excluyendo la posibilidad del gen de la β -3 transducina como causante de la degeneración de los conos ⁽⁴⁶⁾.

2.2 Atrofia Progresiva de la Retina de manifestación tardía

Enfermedad de manifestación tardía y de lenta evolución en comparación a la rod-1. El ERG aparentemente no presenta cambios en las primeras semanas de vida, sin embargo una vez que empiezan a ser detectados los conos y los bastones aparecen igualmente afectados ^(43,47). Otra característica observada es la disminución en los niveles de rodopsina en retinas de los animales afectados, así como en los portadores sugiriendo posibles alteraciones no observadas en estos animales que son considerados clínicamente normales ⁽⁴⁸⁾.

En esta clasificación se encuentran las razas en que la enfermedad tiene normalmente una evolución más lenta de la degeneración de la retina y en donde se pueden pasar años desde la manifestación de los primeros signos clínicos hasta la pérdida completa de la visión ⁽²²⁾. Las primeras alteraciones oftalmoscópicas son observadas alrededor de los 3 a 5 años de edad y la ceguera total puede tardar hasta los 5 a 7 años. Los primeros cambios en el ERG pueden variar mucho entre las razas como a partir de los 6 meses de

edad en los Schnauzers Miniatura o hasta los 2 años en los Cocker Spaniel Inglés ⁽¹⁾. Sin embargo en todas las razas la retina presenta áreas de hiperrefractividad y severa atenuación de su vasculatura. Una alteración característica en el Akita y también observada en los Cazadores de Alces Noruegos es la presencia de una línea horizontal hiperrefractiva superior a la papila óptica ⁽⁴⁹⁾.

Algunas de las razas que conforman este grupo son: Cocker Spaniel Inglés y Americano, French Poodle, Yorkshire Terrier, Schnauzer Miniatura, Akita, Husky Siberiano, Samoyedo, Papillon, Sloughi, Setter Inglés, Terriers Tibetanos, Golden Retriever y Labrador ⁽¹⁾.

En algunas de las razas la enfermedad ya ha sido descrita genéticamente, cuyas mutaciones observadas en posibles genes candidatos estarían relacionadas con el apareamiento del padecimiento.

2.2.1. Raza Schnauzer Miniatura - Displasia de los fotorreceptores

Las retinas de los animales afectados presentan las primeras alteraciones observadas en el ERG alrededor de las 6 semanas de edad, en donde se observa una respuesta disminuida de la amplitud de la onda b en medición realizada después del periodo de adaptación en la oscuridad. Sin embargo los cambios oftalmoscópicos son observados hasta los 1.5 años y 5 años de edad. Estudios morfológicos mostraron que la retina presenta un desarrollo anormal en los perros afectados a partir del día 24 de edad ⁽¹⁾.

Una mutación sin sentido en el codón 82 del gen de la fosducina (FDC) fue aislada como posible gen candidato causante de la displasia de los fotorreceptores. Investigaciones aislaron el DNA complementario del FDC y observaron que retinas afectadas presentaban un gran nivel de expresión de su transcrito. Por medio de la inmunocitoquímica demostraron que la FDC era detectable sólo en los bastones y con la prueba de Northern blot observaron expresiones elevadas del gen en retinas afectadas predegeneradas en comparación con el grupo control de misma edad. Sin embargo algunos perros afectados eran heterocigotos para este alelo mutante y algunos eran homocigotos para el alelo normal,

hecho que indica una participación parcial de esta mutación en los factores genéticos de herencia de la enfermedad ⁽⁵⁰⁾.

2.2.2. Raza Sloughi – Atrofia Progresiva de la Retina

Enfermedad de herencia autosomal recesiva que presenta manifestación temprana similar al Setter Irlandés; sin embargo la ceguera total no ocurre hasta los 4 a 5 años de edad. Aunque se requieren más detalles con respecto a su análisis electrofisiológico, histopatológico y bioquímico los animales afectados se caracterizan por manifestar la ceguera nocturna y visión diurna restringida. Investigaciones posteriores reportan la presencia de una inserción de 8 pb en el exon 21, codon 816 del gen FDE6 β como causante de la enfermedad, que lleva a producción de una proteína truncada que es 10 aminoácidos más larga que la producida en el rcd-1 del Setter Irlandés ⁽¹⁶⁾.

2.2.3. Otras Razas – Atrofia Progresiva de la Retina

Entre las diversas razas que manifiestan la APR de manifestación tardía están: French Poodle, Cocker Spaniel Americano e Inglés, Setter Inglés, Husky Siberiano, Samoyedo, Akita, Papillon, Yorkshire Terrier y Labrador ⁽¹⁾.

En los French Poodle la atrofia progresiva de la retina se manifiesta generalmente entre 3 y 5 años de edad cuando ya se observa una pérdida de la visión nocturna. Hay una progresiva disminución de la visión diurna hasta la ceguera total alrededor de los 5 a 7 años de edad. El desarrollo de cataratas asociada exacerba la pérdida de visión y las primeras alteraciones en el ERG son visibles a los 9 meses de edad ⁽¹⁾. En animales afectados se sabe que hay una reducción en el grado de renovación de los fotorreceptores desde etapas tempranas de la enfermedad. La degeneración celular no es uniforme en toda la retina pero sigue un patrón específico de distribución ⁽⁵¹⁾. En el ERG realizado en cachorros afectados a las 10 semanas de edad fueron observados una disminución en la amplitud y un tiempo de latencia prolongado para ambas ondas a y b ⁽⁵²⁾. Otro estudio realizado también reportó una reducción en los valores de ambas ondas en los animales afectados de hasta 38 a 84% para

a onda a y de 59 a 79% para la onda b, en comparación a los valores obtenidos de los perros normales. Mismo estudio reporta que los animales enfermos presentaron una pérdida en media de 7.2% de la amplitud de los bastones restantes y de aproximadamente 2% en la amplitud de los conos por mes ⁽⁵³⁾.

Los Cocker Spaniel Americano e Inglés presentan la degeneración progresiva de los conos y bastones. Fenotípicamente la edad de diagnóstico oftalmológico y a través del ERG es desigual entre las dos razas. En los Cocker Spaniel Americano el diagnóstico con el ERG es posible a los 9 meses de edad, oftalmoscópicamente entre los 2.5 a 4 años de edad, con los perros afectados presentando ceguera total entre los 3 a 6 años de edad. En los Cocker Spaniel Inglés el ERG es evidente entre los 2 a 3 años de edad y oftalmoscópicamente entre los 4 a 8 años cuando la pérdida de visión ya es evidente. Un segundo hallazgo clínico característico también observado en ambas razas es la presencia de cataratas asociada, donde en muchos casos es considerado como el motivo de la pérdida de la visión ⁽¹⁾.

Los patrones fenotípicos, patológicos y bioquímicos son distintos entre los animales enfermos de las razas French Poodle, Cocker Spaniel Inglés y Americano sugeriendo de que las mutaciones causantes estarían ubicados en diferentes loci. Sin embargo estudios posteriores en el cual fueron realizadas cruces entre perros de la raza French Poodle enfermos con perros Cocker Spaniel Inglés o Americanos también afectados, obtuvieron camadas en donde todos los animales resultaron clínicamente positivos a la APR, sugeriendo de que la mutación pudiera estar presente en el mismo locus y cuya expresión estaría modificada o regulada por antecedentes genéticos del animal ⁽⁵⁴⁾.

En el Setter Inglés los signos clínicos oftalmológicos de la atrofia progresiva de la retina se manifiestan entre los 5 a 8 años de edad ⁽¹⁾. Estudios anteriores reportan los mismos signos clínicos de atenuación vascular e hiperrefractividad de la retina en perros afectados interrelacionados, sugeriendo de una enfermedad heredada. Sin embargo no se ha analizado su relación con la mutación en el codón 807 de la FDE6 β con otros genes candidatos ⁽⁵⁵⁾.

El Husky Siberiano es el primero animal descrito con degeneración de la retina cuyo modo de herencia es ligado al X, otra raza afectada es el Samoyedo. Las anomalías típicamente aparecen después del año de edad, y evolucionan para un severo daño visual

alrededor de los 2 a 3 años de edad, periodo en que pueden ser observados los cambios oftalmológicos ⁽¹⁾. Los portadores presentan un evidente adelgazamiento multifocal de la retina, a pesar de no llegaren a desarrollar ceguera clínica. La mutación todavía es desconocida pero debido a que este tipo de APR es muy similar a la Retinitis Pigmentosa ligada al X de humanos cuya enfermedad está unida al locus RP3, se cree que la alteración se ubique en el mismo gen pero con un menor grado de polimorfismo ⁽⁵⁶⁾.

En los Labradores aunque las alteraciones oftalmológicas se manifiestan tardíamente, un diagnóstico temprano puede ser posible con el ERG a partir de los 4 meses de edad, en donde la amplitud de la onda b ya presenta cambios. A los 7 meses ya se encuentra bien disminuida y a los 21 meses ya no observamos actividad de los bastones, mientras todavía existe alguna actividad de los conos ^(57,58). Un estudio posterior con el ERG realizado en animales portadores para esta enfermedad de herencia recesiva reporta una disminución de la amplitud de la onda b, sugiriendo la posibilidad de un daño en la función de la retina también en los animales heterocigotos observado ya a partir de los 3 a 4 meses de edad ⁽⁵⁹⁾.

En estudio realizado en perros con APR y normales de la raza Papillon se considera que un diagnóstico confiable con el ERG puede ser obtenido a partir del año y 5 meses, periodo en que no hay evidencias oftalmológicas pero ya se observa una disminución de la amplitud de la onda b ⁽⁶⁰⁾.

Se ha reportado recientemente una mutación puntual que ocurre naturalmente en el gen de la rodopsina y que provoca una degeneración progresiva de la retina en perros de la raza Mastiff Inglés, confirniéndole una herencia posiblemente autosómica dominante. Esta característica la diferencia de las otras formas de APR y se asemeja mucho a una de las formas de RP en humanos. Debido a que la estructura de la retina se presenta normal, así como la expresión de la rodopsina y de su receptor, se sugiere que la patogénesis de esta enfermedad no involucre un desarrollo anormal de los fotorreceptores como sucede en la mayoría de las APR. En el ERG no se observan diferencias en las respuestas de los conos y de los bastones en perros afectados a los 2 meses de edad cuando comparados con perros normales, sin embargo a los 12 a 18 meses de edad ya se puede observar una amplitud muy alterada de la onda b en los animales afectados heterocigotos ⁽⁶¹⁾.

3.0 Genes candidatos a la Atrofia Progresiva de la Retina

Los fotorreceptores son susceptibles a una gran variedad de disfunciones heredadas, entre las cuales encontramos a la atrofia progresiva de la retina. Estas enfermedades presentan una gran variedad en el grado de manifestación de los signos clínicos, variación con relación a la edad de expresión, grado de severidad, patrones específicos en la pérdida de los fotorreceptores y diferencias en cuanto al involucramiento de los bastones y de los conos. Por esta gran variedad fenotípica el conocimiento de los genes que más se expresan a nivel de la retina es de gran auxilio en la comprensión y en el desarrollo de pruebas para confirmar o descartar posibles genes candidatos, así como en el análisis de la cosegregación con la enfermedad ⁽⁶²⁾.

Por la gran variedad observada en la manifestación de la enfermedad podemos pensar que en algunas razas la enfermedad involucre más de un gen, sugiriendo un rasgo complejo. Se pueden seguir varios criterios para el establecimiento de estudios para el descubrimiento de genes involucrados en enfermedades complejas. El primer paso estaría en establecer una evidencia estadísticamente significativa para un análisis de ligamiento o asociación, para en seguida disminuir al máximo el tamaño del intervalo entre los marcadores genéticos que serán utilizados. Un análisis posterior de la secuencia del ADN comprendido en el intervalo determinado por estos marcadores genéticos permite la identificación de variaciones de nucleótidos candidatos. La comprobación de la funcionalidad de dicho gene candidato representa la evidencia conclusiva para la demostración de que la alteración encontrada en el nucleótido resulta en el cambio de un fenotipo a otro ⁽⁶³⁾.

Muchas veces el uso de ratones como un modelo animal es extremadamente útil en el estudio del modo de herencia de una enfermedad. En vista que en una enfermedad monogénica la presencia de una sola mutación de manera recesiva es suficiente para producir un fenotipo clínico y por lo tanto la enfermedad, en una enfermedad compleja (multifactorial) existen varios cambios en diversos genes que codifican a muchas proteínas que resultan en una predisposición genética a un determinado fenotipo clínico ⁽⁶⁴⁾.

La mutación en el gen FDE6 β codon 807 está muy bien caracterizada como causante de la rcd-1 en los Setter Irlandeses, misma alteración que ya ha sido descartada en los Cocker Spaniel, French Poodle, Labrador, Collie, Yorkshire Terrier, Dachshund Miniatura Pelo Largo, Malamute de Alaska, Husky Siberiano, Cazadores de Alce Noruegos ^(10,16), Beagle, Basenji, Schnauzer Miniatura, Papillon, entre otras ⁽³³⁾.

En el análisis del gen Fosducina (FDC) por medio del PCR-SSCP (PCR - Single Strand Conformation Polymorphism) no fueron observados polimorfismos en la región codificante del gen. Sólo algunas diferencias en el intron 3 pero que excluyen el gen como causante de la enfermedad en las razas: Collie, Dachshund, Golden Retriever, Setter Irlandés, Sloughi ⁽⁶⁵⁾, Cocker Spaniel, French Poodle, Labrador ^(65,66)

Otro gen candidato investigado fue el gen que codifica para la proteína homeobox de los conos y bastones (CRX), cuya importancia reside en el hecho de que está involucrada en la regulación de la expresión coordinada de múltiples genes específicos de los fotorreceptores que se manifiestan durante el desarrollo de la retina. Debido a su importancia en etapas tempranas del desarrollo de los fotorreceptores, este gen fue considerado un excelente candidato para el estudio de enfermedades de la retina de manifestación temprana. Sin embargo la clonación y análisis de su secuencia no demostraron alteraciones que justificaran su participación en la manifestación de la enfermedad en perros de las razas: Malamute de Alaska, Collies, American Staffordshire Terrier y Terrier Tibetano afectados con APR de manifestación temprana ⁽²⁶⁾.

El conocimiento de los genes candidatos permite pruebas diagnósticos moleculares ya existentes sean perfeccionadas. La ASPCR (PCR alelo-específica) es muy eficiente pues elimina la necesidad de manipulaciones adicionales en el producto de PCR ⁽¹⁹⁾.

Investigaciones posteriores excluyen los genes: FDE6 α ^(14,42,67), FDE6 β ⁽⁴²⁾, FDE6 δ ^(24,42), FDE6 γ ⁽⁴²⁾, ROM1 ^(50,68,69), Opsina ^(27,50,70), RDS-Periferina ^(50,69), FDC ^(65,66) y transducina ^(71,72) en perros de distintas razas predispuestas a manifestar la enfermedad. (Cuadro 1)

En una investigación realizada con retinas de ratones fueron identificados 264 genes no caracterizados y que eran específicos o altamente enriquecidos en los fotorreceptores bastones. Posteriormente fueron identificados putativos ortólogos en humanos para 237 de

los clones de los genes de gran manifestación en los bastones identificados en los ratones. De estos 237, un total de 86 genes mapeaban intervalos cromosomales que contenían genes para enfermedades de la retina no clonados, representando un total de 37 loci diferentes o más de dos tercios de todos los genes de enfermedades retinales en humanos que fueron mapeados pero no clonados ⁽⁶²⁾. Se reconocen en la actualidad 139 genes en humanos que se encuentran involucrados en diversas retinopatías y de este total 32 son reconocidas como causantes de la RP ⁽⁶²⁾, cantidad indiscutiblemente superior al número de genes conocidos o ya excluidos como causantes de la APR.

Otra investigación igualmente importante es el análisis de marcadores genéticos y su cosegregación con los genes causantes de la atrofia progresiva de la retina (APR). Estudios realizados reportan la existencia de una serie de marcadores que estarían relacionados con la APR en los French Poodles, identificados en intervalos correspondientes a las regiones homólogas a los cromosomas de humanos y de ratones ⁽⁷³⁾. El mismo estudio proporcionó condiciones para la elaboración de otra investigación, en donde se confirmó que una serie de marcadores que segregan con el locus de la APR en los French Poodles también segregan con el locus de la APR en los Labradores ⁽⁷⁴⁾.

Actualmente ya se encuentran disponibles comercialmente pruebas genéticas que auxilian en la detección de la atrofia progresiva de la retina en algunas razas de perros ofrecidas por el Laboratorio Optigen® de la Universidad de Cornell. Para las razas en que ya se conocen las mutaciones causantes de la enfermedad la prueba se basa en la detección de dichas alteraciones por medio de reacciones en cadena de la polimerasa, sin embargo, para las demás razas la prueba utiliza marcadores genéticos del ADN en vez de detectar la mutación. Los perros son identificados a través de "huellas" proporcionadas por los marcadores genéticos en el cromosoma 9 canino, identificado como el que contiene el gen para la APR. El resultado de dicha prueba proporciona un genotipo o patrón que permite separar los animales en tres grupos distintos: A (normales), B (portadores) o C (afectados).

A partir de los resultados obtenidos con esta prueba logramos analizar las posibles cruza que pueden ser realizadas entre los animales, conociéndose cual será el riesgo con que las camadas puedan desarrollar la enfermedad. Dichas pruebas son útiles para los

animales en que la enfermedad tiene manifestación autosómica recesiva (Cuadro 2 y 3), autosómica dominante (Cuadro 4) o ligada al X (Cuadro 5 y 6).

4.0 Bases de la electroretinografía

La electroretinografía (ERG) debe de ser realizada en cualquier situación en que las lesiones oculares o neurológicas presentes sean insuficientes para determinar la pérdida de la visión, así como para distinguir una enfermedad de la retina o de otra parte del sistema visual ⁽⁷⁵⁾.

En los animales es un importante método diagnóstico para explicar una pérdida de visión súbita, enfermedades heredadas de la retina, o cuando hay una opacidad muy accentuada de la córnea o del cristalino para verificar la integridad de la retina ⁽⁷⁶⁾.

El ERG es una respuesta a un potencial generado en la retina seguido a un estímulo luminoso. Se utiliza para evaluar la función de la retina, y se basa en la teoría de que la vía entre la retina y la corteza visual se encuentra intacta en aquellos animales que presentan alteraciones visuales. De tal forma que el ERG examina la función de la retina y no la visión ⁽⁷⁷⁾.

El potencial bioeléctrico de la retina es una respuesta compuesta, generado por la diferencia del potencial entre dos electrodos: el electrodo registrador (una lente de contacto superpuesta a la córnea), un electrodo de referencia (una aguja posicionada en el canto lateral del ojo) y un electrodo tierra posicionado en el área occipital. El tamaño y forma de la onda en el ERG depende de varios factores como especie, raza y edad del paciente, así como el tipo e intensidad del estímulo luminoso, condiciones adecuadas para el examen y estado fisiológico o patológico de la retina ^(75,77).

Se identifican 3 ondas en los animales domésticos. La onda a negativa, generada por las capas externas de los conos y de los bastones; la onda b positiva, generada en la capa nuclear interna principalmente por las células de Müller; y la onda c, generada por la capa del epitelio pigmentado de la retina. Los bastones son mucho más sensibles que los conos y funcionan en bajas condiciones de iluminación (visión escotópica), como en las noches, mientras que los conos son menos sensibles y funcionan predominantemente en

condiciones de gran iluminación (visión fotópica). Las ondas **a** y **b** son las más importantes en un examen y poseen componentes fotópicos y escotópicos, la onda **g** presenta un largo período de latencia y generalmente no es analizado en un ERG clínico ^(76,77). Son reconocidos tres componentes primarios: PI, PII y PIII. El PIII es una onda rápida corneonegativa que representa predominantemente cambios en la membrana de los fotorreceptores por su respuesta a la luz, pudiendo ser considerado como componente de la onda **a**. El PII es una onda corneo-positiva que representa la actividad de la capa interna de la retina, determinando y dominando la onda en el ERG. Fisiológicamente se trata del flujo de los iones de potasio para fuera de las capas sinápticas de la retina hacia las células de Muller y vitreo. El componente PI es una onda corneo-positiva lenta, que aparece debido a la despolarización del epitelio pigmentado, causado por la queda extracelular de iones de potasio producido por la respuesta a la luz de los fotorreceptores ⁽⁷⁵⁾. Las tres ondas se diferencian con referencia al período de latencia y amplitud. La latencia es el tiempo en que se tarda la retina en responder al estímulo luminoso y se mide en milisegundos (mS), mientras que la amplitud se refiere a la medición eléctrica de la intensidad de la respuesta de la retina al estímulo y se mide en milivolts (μV) ⁽⁷⁷⁾. Así que en un ERG de un ojo con alguna disfunción de los bastones, se registrará sólo la actividad de los componentes fotópicos (conos), mientras que en una disfunción de los conos, el registro será de los componentes escotópicos (bastones) ⁽⁷⁵⁾.

Enfermedades en la retina pueden afectar el ERG tanto en el tiempo de latencia como en la amplitud o en algunos casos a ambos. Las degeneraciones heredadas de la retina alteran el tiempo de respuesta retinal, resultando en un aumento en el tiempo de latencia y usualmente en la reducción de la amplitud de ambas ondas **a** y **b** ⁽⁵²⁾.

Las condiciones de estímulo que favorecen a los conos (fotópicas) producen respuestas de ondas **b** pequeñas, de latencia corta; mientras que la estimulación del sistema receptor de los bastones en condiciones escotópicas producen respuestas de onda **b** corneo-positivas relativamente grandes y de latencia más larga. En condiciones de adaptación completa a la oscuridad, la sensibilidad máxima de la principal onda **b** corneo-positiva del ERG en respuesta a destellos simples de la luz (a cada 2 segundos) aumenta mucho. Ya en condiciones de adaptación estable a la luz blanca suficiente para eliminar la contribución de

los bastones al ERG, la sensibilidad máxima de la misma onda b no se altera significativamente ^(78,79).

Una respuesta del ERG a un estímulo de luz blanca después de un periodo de adaptación en la oscuridad representa una respuesta mixta de los conos con los bastones, dominado en gran parte por los bastones. Los estímulos que separan las funciones de los fotorreceptores son derivados de una combinación de filtros que proporcionan respuestas distintas, debido a que los conos y los bastones poseen diferentes sensibilidades espectrales. En perros los bastones son más sensibles a ondas de luz de 506nm y los conos a las de aproximadamente 550nm, la luz azul proporciona una onda corta, mientras que la luz roja proporciona una onda de mayor longitud. Para que tengamos la sensibilidad máxima representada por los bastones el perro tendría que permanecer como una hora en la oscuridad, sin embargo la misma respuesta logra ser alcanzada con una adaptación de 20 a 30 minutos. La obtención aislada de la respuesta de los bastones es favorecida por la adaptación en la oscuridad, estímulo de baja intensidad y luz de baja longitud de onda como la azul. A la inversa la respuesta aislada de los conos es favorecida con la adaptación a la luminosidad y estímulos más intensos con luz con longitud de onda más largo como la roja⁽⁷⁵⁾.

La electroretinografía en destello usa estímulos repetidos, siendo una herramienta muy útil en la separación de la función entre conos y bastones. La variación en el rango de estimulaciones repetidas y en la intensidad cuando bien controlados, permite el aislamiento de las señales entre conos y bastones. Así que los estímulos de baja intensidad representan las respuestas obtenidas de la función de los bastones, mientras que intensidades más altas (≥ 30 Hz) cuyos destellos son más rápidos favorecen las respuestas de los conos ⁽⁷⁵⁾.

El ERG es un examen de utilidad bajo diversas circunstancias ⁽⁷⁷⁾:

- Como rutina prequirúrgica en cirugías de cataratas, por la concurrencia común de degeneración progresiva de la retina (DPR) o de la atrofia progresiva de la retina (APR),
- Como auxilio en el diagnóstico de desórdenes retinianos en que no existen aún evidencias oftalmoscópicas, así como en casos de pérdida súbita de visión sin causa aparente, como los casos de ceguera súbita,

- En la diferenciación de anomalías de los fotorreceptores.

Algunos factores interrelacionados que pueden afectar los componentes de un ERG serían ^(75,80):

- Funcionalidad entre bastones y conos.
- Intensidad, amplitud de onda (color), frecuencia y duración del estímulo de luz.
- Posición y tamaño palpebral, así como la posición y tamaño del globo ocular.
- Presión del oxígeno sanguíneo,
- Perfusión sanguínea en el ojo,
- Especie, raza y edad del animal,
- Intensidad luminosa en el ambiente y tiempo en la oscuridad o en la luz.
- Pérdida visual.
- Temperatura, nutrición, anestesia, drogas y toxinas.

Los artefactos presentes durante un examen comprenden:

- Párpadeo de los párpados o de la membrana nictitante.
- Movimiento del globo ocular.
- Artefactos registrados inducidos, como en el uso erróneo en las constantes de tiempo.

Se recomienda un protocolo de ERG bien elaborado en donde haya una buena definición del estímulo a ser utilizado, así como las condiciones bajo las cuales será realizado el estudio (adaptación a la oscuridad o a la luminosidad) y en cual orden será utilizado los estímulos. Eso debido a que las respuestas de los bastones requieren una adaptación a la oscuridad, estímulos relativamente de baja intensidad y deben de ser realizados antes de las respuestas de los conos, los cuales requieren estímulos intensos que alteran la adaptación a la oscuridad. Un protocolo ideal debe de incluir un patrón en el tiempo requerido de adaptación a la oscuridad, seguido de uno o dos estímulos para aislar las respuestas de los bastones, posteriormente una serie de estímulos que incluyan respuestas mixtas de los bastones y de los conos, y finalmente uno o dos estímulos de alta intensidad para aislar las respuestas de los conos.

IV. HIPÓTESIS

Con base en exámenes oftalmológicos se espera encontrar animales con atrofia progresiva de la retina en una población de perros que acuden a un hospital veterinario por alteraciones oculares.

V. OBJETIVOS

El objetivo general de este proyecto es de evaluar la prevalencia de la enfermedad en una población de perros de distintas razas examinados oftalmológicamente.

Objetivos principales:

1. Detectar los animales enfermos con atrofia progresiva de la retina en una población de perros de distintas razas con base en el examen oftalmológico y estudios de electroretinografía.
2. Confirmar el uso de la electroretinografía como método diagnóstico de la atrofia progresiva de la retina.
3. Discutir los posibles genes candidatos causantes de la enfermedad.
4. Plantear soluciones para el control de la enfermedad.

VI. MATERIAL Y MÉTODOS

Para el desarrollo de este trabajo se emplearon 1508 animales que comparecieron al Hospital Veterinario de Especialidades en el periodo de enero a julio del 2002 conformando 2 grupos. Una población canina de 456 animales de distintas razas que se presentaron por problemas oftalmológicos integró el Grupo I. Los 1052 animales restantes se encontraban oftalmológicamente sanos y comparecieron al Hospital por problemas generales o a vacunación, conformaron el Grupo II. Una población de Setter Irlandés oftalmológicamente normales conformó el Grupo III.

Los animales del Grupo I fueron subdivididos en otros dos grupos: una población con problemas degenerativos en la retina conformando un Grupo I-A, y un Grupo I-B constituido por animales que llegaron por otras alteraciones oftalmológicas.

Todos los animales del Grupo I-A, así como los del Grupo III fueron sometidos a un examen clínico oftalmológico completo y ERG. (Cuadro 7)

- Examen clínico oftalmológico:
 - Examinación periocular: evaluación de las órbitas en cuanto a simetría, deformidades o agrandamientos.
 - Párpados: detección de anormalidades en la posición, en la función o en la estructura como lagofthalmos, ptosis, triquiasis, entropión, ectropión, blefaritis o neoplasias. Evaluación de los reflejos de parpadeo.
 - Conjuntiva y membrana nictitante: observación de anormalidades como vascularidad incrementada, cuerpos extraños, cilia ectópica, hemorragias, edema, crecimientos anormales, eversión del cartílago de la nictitante y prolapso de la glándula del tercer párpado.
 - Esclera: inspección para notar cambios en vascularidad, color, masas anormales, heridas o laceraciones.
 - Córnea: con la lámpara de hendidura para biomicroscopia debe examinarse con cuidado en busca de pérdida de la transparencia por edema o infiltración, opacidad, vascularización, pigmentación, resequedad, cuerpos extraños, laceraciones y ulceraciones.

- Cámara anterior e iris: también con el auxilio de la lámpara de hendidura la cámara anterior se evalúa desde los aspectos anterior, lateral y dorsal. Puede evaluarse para niveles elevados de proteínas, sangre, quistes del iris, profundidad y cuerpos extraños. El iris se examina con la magnificación para evaluar color, forma, tamaño de la pupila, superficie y movimiento. Evaluación también del tamaño de las pupilas y reflejos pupilares a la luz, que pueden estar ausentes o disminuidos en animales con la atrofia progresiva de la retina.
- Lente: examinado en busca de opacidades como las producidas por las cataratas, posición, presencia y tamaño. La localización de la catarata auxilia en la determinación de su causa pudiendo ser heredada o asociada a la atrofia progresiva de la retina.
- Vítreo: examinado por oftalmoscopia se buscan anomalías como filamentos vítreos, hialosis asteroide, hemorragia e infiltración con células inflamatorias.
- Fondo ocular: examen realizado con el uso del oftalmoscopio indirecto y una lente de aumento de 20 D, con previa dilatación de las pupilas con un midriático de corta acción como la Tropicamida (Mydriacil®). Se evalúan cambios en la apariencia normal, desprendimiento de la retina, hipoplasia o displasia coriorretinal, patrones vasculares, atenuación, congestión, hemorragia, colobomas, cicatrices, alteración en el color, cambios en la pigmentación y focos de inflamación. El disco óptico debe de ser examinado en busca de alteraciones de la forma, tamaño, color, inflamación, edema y colobomas.
- Electroretinografía: previa anestesia tópica de la córnea con tetracaína (Ponti Ofteno®). Posicionamiento de los electrodos: un electrodo registrador (una lente de contacto superpuesta a la córnea), un electrodo de referencia (una aguja posicionada en el canto lateral del ojo) y un electrodo tierra posicionado en el área occipital, y registro de la actividad eléctrica de la retina la cual fue posteriormente analizada mediante el uso del programa RetinoGraphics.

El protocolo del ERG utilizado fue el estándar con las siguientes características:

✓	Tiempo base (mS/Div)	5
✓	Sensibilidad (μ V/Div)	20

✓	Filtro (Hz)	No
✓	Estímulo (Hz)	Único
✓	Fuente	LED
✓	Intensidad (dB)	0
✓	Color	Blanco
✓	Promedio (# de testes)	8
✓	Tiempo inter-testes (S)	2
✓	Artefactos (%FS)	No
✓	Tiempo de adaptación (min.)	N/A 5 min.

- Análisis estadístico de los pacientes que comparecieron al Hospital Veterinario:

Para evaluar se la proporción de pacientes que asisten a consulta oftalmológica varía por raza (se consideraron 5 categorías: otras y Collie, Cocker Spaniel, French Poodle, Schnauzer Miniatura e Yorkshire Terrier) o por sexo, se ajustaron modelos de regresión logística.

Asimismo, se quiso evaluar el efecto que la raza y el sexo tenían en la prevalencia de la atrofia progresiva de la retina mediante el ajuste de modelos de regresión logística, sin embargo por problemas de tamaño de muestra únicamente se pudo evaluar se existían diferencias significativas en la prevalencia de la enfermedad entre sexos mediante una prueba de homogeneidad de proporciones.

- Análisis estadístico de los resultados de la electroretinografía: Para el análisis de los resultados de la electroretinografía únicamente se utilizó la información correspondiente a la onda b (amplitud y latencia) porque ser la onda más significativa en el diagnóstico de la atrofia progresiva de la retina.

Para comparar la latencia promedio y la amplitud promedio de cada ojo entre el grupo de perros enfermos con APR (I-A) y el grupo de perros Setter Irlandeses clínicamente normales (II) se realizó una prueba de t para muestras independientes.

Se comparó posteriormente la longitud promedio y la amplitud promedio entre ojo derecho e izquierdo para el grupo de perros enfermos con APR (I-A) y para el grupo

normal (III) en separados mediante una prueba de t para muestras relacionadas. Para el grupo de perros normales (III) también se comparó la longitud promedio y la amplitud promedio de cada ojo antes y después del periodo de adaptación en la oscuridad mediante la misma prueba de t para muestras relacionadas.

Previamente a la realización de los análisis de comparación de medias se hicieron pruebas de normalidad utilizando las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y la de Shapiro-Wilk. Todos los análisis se realizaron con el paquete estadístico SPSS (Statistica Package for Social Sciences) versión 10.0.

VII. RESULTADOS

Comparecieron al Hospital Veterinario de Especialidades en el periodo de enero a julio de 2002 un total de 1508 animales de 76 distintas razas, siendo que las 10 razas que se presentaron con mayor frecuencia fueron: el French Poodle, Cocker Spaniel, Criollo, Maltes, Schnauzer Miniatura, Pastor Alemán, Labrador, Golden Retriever, Yorkshire y Rottweiler. De la población oftalmológica conformada por 456 animales de 14 distintas razas, las que se presentaron con más alteraciones oculares fueron: French Poodle, Cocker Spaniel, Criolla, Maltes, Schnauzer Miniatura, Shar Pei y Rottweiler.

Con respecto al comportamiento de la proporción de pacientes que asistieron a consulta oftalmológica, ningún modelo de regresión logística resultó significativo, lo que implica que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la proporción de pacientes que asistieron a consulta oftalmológica ni por raza ni por sexo. La proporción de pacientes que asistieron a consulta oftalmológica se encontró entonces entre 27.89% y 32.51% con un 95% de confianza en una población de perros similares a los que acudieron al Hospital Veterinario de Especialidades en el mismo periodo (Cuadro 8).

No se encontró una diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$) en la prevalencia de la APR por sexo. La prevalencia de la APR en pacientes oftalmológicos similares a los que acudieron al Hospital Veterinario de Especialidades se encontró entre 2.16% y 5.74% con un 95% de confianza. La distribución de pacientes oftalmológicos que presentaron APR por raza y sexo se presenta en los cuadros 9 y 10.

Los animales que integraron el Grupo I que se presentaron con problemas de pérdida de visión fueron separados en un grupo I-A y sometidos a un examen oftalmológico y del fondo ocular. Se encontraron perros clínicamente positivos a la atrofia progresiva de la retina en donde oftalmoscópicamente las retinas exhibían avanzada atenuación de sus vasculaturas y diversas áreas de hiperrefractividad. El examen electroretinográfico registró retinas con escasa actividad eléctrica las cuales fueron sometidas a uno sólo estímulo luminoso. El valor promedio observado considerando ambos ojos para la latencia de la onda b fue de 12.34 mSeg con un error estándar (ee) de 1.28, así como valor de 11.62 μV ($ee = 2.95$) para la amplitud. El animal 306 fue incluido en el Grupo I-A de animales

positivos a la APR por presentar alteraciones oftalmológicas compatibles con la enfermedad, aunque presentó valor de la onda b en el ojo izquierdo dentro del rango de normalidad. (Cuadro 11, Figura 3)

Los animales del Grupo III se presentaron clínicamente normales al examen oftalmológico y del fondo ocular mediante previa dilatación de las pupilas con un midriático de corta acción. Fueron sometidos posteriormente al examen de ERG en donde la retina fue estimulada en dos ocasiones. Se realizó un registro rápidamente después que el animal fue sometido a la oscuridad súbita, y un segundo registro posterior a un periodo de adaptación de 5 minutos en la oscuridad en donde se esperaba una respuesta de la onda b de mayor amplitud. Se obtuvieron valores promedio considerando ambos ojos para la latencia de la onda b de 17.48 mSeg ($ee = 0.95$) en el primer estímulo, valor que aumentó para 19.73 mSeg ($ee = 0.87$) después del periodo de adaptación a la oscuridad. La misma relación fue observada en el valor de la amplitud de la onda b que fue de 89.16 μV ($ee = 8.19$) en el primer estímulo y de 113.10 μV ($ee = 12.37$) después del periodo de adaptación a la oscuridad.

Ciertos animales tuvieron que ser tranquilizados (Acepromacina: 0.1 mg/Kg I.M. + Tiletamina-Zolazepan: 5 mg/Kg I.M.) para una mejor evaluación en el examen electroretinográfico, explicando las menores amplitudes de la onda b en el segundo estímulo de la retina. En los animales 105 y 106 no se les efectuó el examen electroretinográfico después de los 5 minutos de adaptación en la oscuridad, pues como se trataban de animales de exposición no tuvimos el permiso del propietario para la tranquilización de los mismos y la realización del examen completo. (Cuadro 12, Figura 4-A y 4-B)

En el análisis con la prueba de t para muestras independientes realizado en el ojo derecho de la población del grupo I-A enfermos con APR vs. los de la población del grupo III de perros Setter Irlandeses clínicamente normales, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas con respecto a la latencia de la onda b ($p=0.059$), sin embargo se encontraron diferencias estadísticamente significativas con respecto a su amplitud ($p<0.000$). En el mismo análisis realizado para el ojo izquierdo se encontraron

diferencias estadísticamente significativas en la latencia ($p < 0.05$) y en la amplitud de la onda b ($p < 0.000$). (Cuadros 13 y 14)

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) en el análisis del promedio de la longitud y de la amplitud entre ojo derecho e izquierdo tanto en el grupo de perros con APR (I-A) como en el grupo de perros clínicamente normales (III). (Cuadros 15 y 16)

Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) en el promedio de la longitud y de la amplitud antes y después del periodo de adaptación en la oscuridad para el ojo derecho así como para el ojo izquierdo en el grupo de perros Setter Irlandeses clínicamente normales (III). (Cuadro 17)

VIII. DISCUSIÓN

1. Evaluación de la prevalencia de la atrofia progresiva de la retina

De los 1508 animales de distintas razas que comparecieron al Hospital Veterinario de Especialidades, 30.2% (456/1508) fueron debido a problemas oftalmológicos, siendo que de estos 3.9% (18/456) fueron diagnosticados con atrofia progresiva de la retina. El alto porcentaje de animales con alteraciones oculares encontrado en este estudio se debe a que el Hospital en donde fueron obtenidos los datos es reconocido por esta especialidad.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) con respecto a la prevalencia de la atrofia progresiva de la retina entre machos y hembras, sin embargo no se pudo evaluar el efecto de la raza en la prevalencia de la enfermedad debido a que el tamaño de la muestra fue muy pequeño.

2. Confirmación del uso de la electroretinografía en el diagnóstico de la atrofia progresiva de la retina

En el análisis de los registros del ERG realizados en este estudio se consideraron normales todas las respuestas que presentaron una amplitud mayor que $44.5 \mu\text{V}$ para la onda \underline{h} después de 5 minutos de adaptación en la oscuridad, así como retinas enfermas todas aquellas que presentaron ondas \underline{h} con amplitud inferiores a $30 \mu\text{V}$ adaptados de los valores establecidos por Sims ⁽⁷⁷⁾.

Los valores obtenidos en el ERG del grupo I-A se encontraron dentro del rango establecido por Sandberg *et.al* ⁽⁵³⁾ y Kommonen *et.al* ⁽⁵⁷⁾. De la misma forma los valores encontrados en el grupo III de los animales clínicamente normales, considerando las diferencias en cuanto a raza, edad y tiempo de adaptación, fueron cercanos a los establecidos por Sims ⁽⁷⁷⁾ y Aguirre y Rubin ⁽⁵²⁾. En el análisis del registro realizado en este grupo III después del periodo de adaptación en la oscuridad, se observó un aumento en los valores de la onda b conforme observado por Sims ⁽⁸¹⁾, aunque no hubo diferencias

estadísticamente significativas con relación a las dos mediciones realizadas de la latencia del ojo derecho.

Ciertos animales del grupo III conformado por individuos clínicamente normales al examen oftalmológico completo y de ERG, tuvieron que ser tranquilizados para una mejor evaluación del examen electroretinográfico, explicando algunas amplitudes de valores menores para la onda *b* en el segundo estímulo de la retina ⁽⁸⁰⁾.

El análisis de los datos obtenidos en el ERG del grupo I-A de animales enfermos con APR en comparación a los del grupo III de Setter Irlandeses clínicamente normales, confirmó estadísticamente ($p < 0.000$) que el examen de ERG es un método de diagnóstico eficiente y confiable para la medición de la actividad eléctrica de la retina y para su posterior clasificación en normal o enferma ^(75,76,77).

En el análisis comparativo de los valores obtenidos de ambos ojos para cada grupo en separado (I-A y III) no fueron encontradas diferencias estadísticas ($p > 0.05$), demostrando que los registros del ERG confirman la manifestación bilateral de la enfermedad observada a través de los cambios oftalmoscópicos ^(1,20). Además los valores analizados del grupo III obtenidos de ambos ojos inmediatamente en la oscuridad y después de 5 minutos de adaptación en la oscuridad, demuestran ($p > 0.05$) que se necesita un periodo de adaptación más largo que el utilizado en este estudio para la obtención de datos que enseñen una evidencia estadística del aumento en la respuesta de la amplitud de la onda *b* en el registro posterior al periodo de adaptación en la oscuridad ^(79, 81).

3. Discusión de los posibles genes candidatos causantes de la atrofia progresiva de la retina

Considerando que actualmente se conocen 32 genes causantes de la RP en humanos y que apenas unos 20% han sido investigados como posibles genes candidatos de la APR, deberíamos de considerar todos los demás genes que aún no fueron investigados como la arrestina o los genes que controlan la expresión de los genes específicos de las células fotorreceptoras (NRL y CRX), como posibles candidatos ^(62,82). Otro punto importante es analizar la expresión en retinas de perros de todos los 264 genes ya identificados en retinas

de ratones para evaluar la posibilidad de que estén involucrados con la enfermedad ⁽⁶²⁾. La clonación y el análisis de la expresión de determinados genes en la retina utilizando modelos de ratones "knock-out" en donde la expresión de un determinado gen es inactiva, así como el análisis de otros genes que participen en la cascada de la fototransducción ⁽²⁵⁾ son otras técnicas que permiten evaluar posibles genes candidatos como causantes de enfermedades degenerativas de la retina.

Un factor limitante muy importante en la clonación de otros posibles genes candidatos causantes de retinopatías es la falta de un catálogo completo con los genes que se expresan selectivamente en los fotorreceptores, así como el desconocimiento de la secuencia de muchos genes importantes en las diferentes especies existentes. Un proyecto muy audaz está siendo desarrollado en la Universidad de California denominado "Proyecto Genoma Canino" cuyo mayor objetivo es el de originar un mapa completo de todos los genes del perro, herramienta que auxiliará en la investigación de muchos genes causantes de diversas enfermedades heredadas en esta especie. Otra importante contribución proporcionada por esta investigación es el desarrollo de iniciadores que puedan ser utilizados en la reacción en cadena de la polimerasa (RCP), generados con base en una tabla que contiene la frecuencia de los codones que forman el ADN canino (Cuadro 18). La secuencia completa del genoma humano y de varias otras especies proporcionarán un nuevo punto de partida para la comprensión de la composición de nuestro código genético y como algunas alteraciones en estas instrucciones pueden resultar en una enfermedad. Una vez que hallazgos importantes en la especie canina pueden ser extrapolados a la medicina humana y viceversa.

4. Planteamiento de soluciones para el control de la atrofia progresiva de la retina

Es muy importante destacar que el examen oftalmoscópico y del fondo del ojo debe de ser incluido dentro del examen general realizado en todos los animales que llegan a una clínica veterinaria, independiente de cual sea el motivo principal de la consulta una vez que discretas alteraciones oftalmológicas pueden pasar desapercibidas. En un reporte realizado

en Italia en donde más de 2,000 perros que comparecieron a consulta por motivos diversos fueron examinados oftalmológicamente, las dos alteraciones oftalmológicas principales encontradas en esta población fueron lesiones inflamatorias en el fondo ocular y la atrofia progresiva de la retina ⁽⁸³⁾ demostrando la gran importancia del examen.

La concientización de propietarios y clínicos veterinarios de la importancia del examen oftalmológico proporcionará a todos los oftalmólogos una enorme e importante base de datos que permitirá el desarrollo de programas de control de la APR o aún mismo perfeccionar los ya existentes en algunos países como Estados Unidos e Inglaterra ⁽⁸⁴⁾. Los programas instituidos en Inglaterra ⁽²³⁾ y Estados Unidos ⁽³³⁾ para la erradicación de la enfermedad entre los Setter Irlandeses fue alta pero no completamente un éxito. Eso debido a que en la población estudiada en ambos lugares se encontró una proporción de 0.48% en Inglaterra y de 7.8% en Estados Unidos de individuos portadores del gen mutante cuando comparados a los individuos homocigotos normales ^(23,33). Sin embargo, en un estudio genético realizado en una población que representaba 75% de los Setter Irlandeses de criadores de Australia no se encontraron animales portadores de la mutación, considerando que el muestreo fue aleatorio y la prevalencia fuera la misma que la encontrada en los Estados Unidos e Inglaterra, se esperarían 3 animales heterocigotos para la mutación sugiriendo que la enfermedad estaría ya controlada en este país ⁽⁸⁵⁾.

En la Federación Canófila Mexicana A.C. se registran un promedio de 65,000 animales al año a nivel del territorio nacional, siendo que las 10 razas más registradas por orden de aparición son: Pastor Alemán, Rottweiler, Labrador, Schnauzer Miniatura, Golden Retriever, Yorkshire Terrier, Bulldog Inglés, French Poodle, Doberman y Pastor Belga Malinois. A estos datos se debe considerar el hecho de que una gran población de mascotas está conformada por razas muy populares como el Cocker Spaniel y el French Poodle que no son registradas, resaltando la importancia de un control más riguroso de la población canina para la detección de muchas enfermedades.

Este punto puede ser mejorado con el desarrollo de programas que ayuden a concientizar a los propietarios y a los criadores de todas las razas de la importancia de un examen oftalmológico completo en sus animales que auxiliaría en la detección de enfermedades heredadas como la APR. A demás de contribuir para la identificación de

las mutaciones causantes de cada enfermedad y el desarrollo de pruebas moleculares para la determinación de su estado genético más específicos y seguros.

Actualmente el Laboratorio Optigen (www.optigen.com) y la Universidad de Cornell ofrecen un test para el diagnóstico de animales con APR con base en la presencia de la mutación o con la utilización de marcadores genéticos que segregan junto con el locus para la enfermedad presente en el cromosoma 9 canino (Cuadro 19). El diagnóstico proporcionado a los perros de las razas en que ya se conocen la mutación como el Setter Irlandés es 100% seguro, sin embargo en las razas en las cuales el test está basado en la presencia de los marcadores genéticos como en los French Poodle, el mismo puede resultar en falso positivos. Eso debido a que estos marcadores son formados por un grupo de alelos que no causan la enfermedad pero se evidencian en los individuos que son afectados o portadores de la enfermedad. En el diagnóstico a través de los marcadores los perros afectados presentan 2 copias de dichos marcadores genéticos, mientras que los perros que no presenten el marcador son considerados libres de la enfermedad no siendo portadores ni afectados, pudiendo ser utilizados en programas de cruce con toda la seguridad. Desafortunadamente el test con los marcadores no es considerado tan exacto en el diagnóstico porque los perros que no están afectados pueden presentar los marcadores genéticos y por lo tanto sean considerados falsos positivos, sin embargo eso no disminuye el valor del test. Para esto si encontramos un perro positivo al marcador podemos realizar una cruce programada entre este animal con uno afectado y verificar su camada, a fin de determinar si este perro es un falso positivo. Para la complementación de esta información se buscó obtener más detalles con respecto a los marcadores utilizados por el laboratorio en la realización de estos tests, sin embargo la respuesta obtenida fue que por se tratar de una información privada no tuvimos acceso a dicha averiguación.

La inconveniencia del alto precio por la necesidad de envío de las muestras al extranjero disminuye la disponibilidad de que este test sea ofrecido a todos los propietarios de mascotas y criadores. Otro punto muy importante en resaltar, pues con el apoyo de importantes laboratorios dispuestos a cooperar en el desarrollo de estas mismas pruebas a nivel nacional, lograríamos ofrecer el mismo servicio a todas las personas a precios más accesibles.

La generación y mantenimiento de poblaciones con atrofia progresiva de la retina es otro factor fundamental para futuras investigaciones, pues posibilita el acceso a un número mayor de individuos positivos a la enfermedad para el análisis de la segregación de la misma en un pedigrí y estudios más minuciosos con respecto a las posibles mutaciones presentes. Ampliando las posibilidades de desarrollar técnicas moleculares diagnósticas más eficientes, rápidas y que requieran una menor manipulación de las muestras, siendo muy útiles en la averiguación de los animales enfermos antes que los mismos manifiesten clínicamente la alteración, así como en la detección de los animales portadores.

La confirmación de los animales enfermos o portadores posibilita que los mismos sean encaminados a programas de reproducción supervisadas. Así que, en casos en que existan criadores que tengan reproductores de gran valor económico diagnosticado como positivos a la APR, serían orientados a cruzar estos animales afectados solamente con hembras que sean diagnosticadas libres de la enfermedad, asegurando de esta manera la generación de camadas de gran interés comercial con la seguridad de que no manifestarán clínicamente la APR.

Otra cuestión a ser discutida es el establecimiento de certificados de salubridad oftalmológica como la CERF (Canine Eye Registration Foundation) existente en los Estados Unidos y Canadá desde 1974, cuyo principal objetivo es recoger datos de todos los perros examinados oftalmológicamente para proporcionar informaciones de la prevalencia de enfermedades oculares en determinadas razas y auxiliar futuras investigaciones en cuanto a modo de herencia y susceptibilidad entre razas. El certificado que es expedido por oftalmólogos registrados en esta fundación reporta si el animal está libre de enfermedades oculares heredadas, siendo un requisito fundamental para el registro de los perros en los kennel clubes de Estados Unidos, Canadá e incluso de Inglaterra, en donde un perro que no tenga el certificado no puede ser registrado. Esta misma regla debería de ser requisito obligatorio para el registro de todos los animales en la Federación Canófila Mexicana, siendo necesaria una reestructuración del pedigrí en el cual serían agregados todos los datos de importancia clínica del animal y no sólo los nombres, para que a través de este documento uno pueda tener el conocimiento de las enfermedades heredadas a que fueron examinados los animales.

La atrofia progresiva de la retina es una enfermedad muy común entre las diversas enfermedades oculares y que acomete un gran número de animales. Logramos demostrar que la enfermedad está presente en la población mexicana de perros, lo que hace imprescindible la divulgación y el desarrollo de un plan de control de la misma.

IX. REFERENCIAS

1. Narfstrom K., Ekestén B. Diseases of the canine ocular fundus - Gellat K.N. ed *Textbook of veterinary ophthalmology* 3rd ed. Philadelphia: Williams and Williams, 1998; 869-933.
2. Druja TP, McGee TL, Reichel E, Han LB, Cowley GS, Yandell DW, Sandberg MA, Berson EL. A point mutation of the rhodopsin gene in one form of retinitis pigmentosa. *Nature* 1990; 343: 364-366.
3. Humphries P, Kenna P, Farrar GJ. On the molecular genetics of retinitis pigmentosa. *Science* 1992; 256: 804-808.
4. McLaughlin ME, Ehrhart TL, Berson EL, Dryja TP. Mutation spectrum of the gene encoding the β subunit of rod phosphodiesterase among patients with autosomal recessive retinitis pigmentosa. *Proc Natl Acad Sci* 1995; 92: 3249-3253.
5. Bowes C, Li T, Danciger M, Baxter LC, Applebury ML, Farber DB. Retinal degeneration in the rd mouse is caused by a defect in the β subunit of rod cGMP-phosphodiesterase. *Nature* 1990; 347: 677-680.
6. Pittler SJ, Baehr W. Identification of a nonsense mutation in the rod photoreceptor cGMP phosphodiesterase β -subunit gene of the rd mouse. *Proc Natl Acad Sci* 1991; 88: 8322-8326.
7. Lem J, Flannery JG, Tiensen L, Applebury ML, Farber DB, Simon MI. Retinal degeneration is rescued in transgenic rd mice by expression of the cGMP phosphodiesterase β subunit. *Proc Natl Acad Sci* 1992; 89: 4422-4426.
8. Clements P.J.M., Gregory C.Y., Petersen-Jones S.M., Sargan D.R., Bhattacharya S.S. Confirmation of the rod CGMP phosphodiesterase β subunit (FDE β) nonsense mutations in affected red-1 Irish Setters in the UK and development of a diagnostic test. *Curr Eye Res* 1993; 12: 861-866.
9. Suber M.L., Pittler S.J., Qin N., et al. Irish Setter dogs affected with rod/cone dysplasia contain a nonsense mutation in the rod cGMP phosphodiesterase β - subunit gene. *Proc Natl Acad USA* 1993; 90: 3968-3972.

10. Ray K., Baldwin V.J., Acland G.M., Blanton S.H., Aguirre G.D. Cosegregation of codon 807 mutation of the canine rod cGMP phosphodiesterase β gene and rcd1. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35: 4291-4299.
11. Ray K, Baldwin VJ, Acland GM, Aguirre GD. Molecular diagnostic tests for ascertainment of genotype at the rod cone dysplasia 1 (rcd1) locus in Irish Setters. *Curr Eye Res* 1995; 14: 243-247.
12. Aguirre GD, Farber D, Lolley R, Fletcher RT, Chadner GJ. Rod-cone dysplasia in Irish Setters: a defect in cyclic GMP metabolism in visual cells. *Science* 1978; 201: 1133-1134.
13. Farber DB, Danciger JS, Aguirre G. The β subunit of cyclic GMP phosphodiesterase mRNA is deficient in canine rod-cone dysplasia 1. *Neuron* 1992; 9: 349-356.
14. Petersen-Jones SM, Entz DD, Sargan DR. cGMP phosphodiesterase α mutation causes progressive retinal atrophy in the Cardigan Welsh Corgi dog. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40(8): 1637-1644.
15. Petersen-Jones SM. Development and use of a polymerase chain reaction-based diagnostic test for the causal mutation of progressive retinal atrophy in Cardigan Welsh Corgis. *Am J Vet Res* 2000; 61(7): 844-846.
16. Dekomien G., Runte M., G6dde R., Epplen J.T. Generalized progressive retinal atrophy of Sloughi dogs is due to an 8 bp insertion in exon 21 of the PDE 6 B gene. *Cytogenet Cell Genet* 2000; 90: 261-267.
17. Aguirre G.D., Farber D., Lolley R., Fletcher R.T., Chadner G.J. A defect in cyclic GMP metabolism in visual cells. *Science* 1978; 201: 1133-1134.
18. Buyukmihci N.C., Aguirre G., Marshal J. Retinal degenerations in the dog II. Development of the retina in rod-cone dysplasia. *Exp Eye Res* 1980; 30: 575.
19. Ray K., Tejero M.D.L., Baldwin V.J., Aguirre G.D. An improved diagnostic test for rod cone dysplasia 1 (rcd1) using allele specific polymerase chain reaction. *Curr Eye Res* 1996; 15: 583-587.
20. Slatter D. *Retina - Fundamentals of veterinary ophthalmology*. 2nd ed. W.B.Saunders company, 1990;400-436.

21. Cohen A.I. La Retina (cap.19) – Hart, W.M. *Adler Fisiología del Ojo*. 9th ed. Mosby-Doyma Libros, 1994; 581-681.
22. Walde I., Schäffer E.H., Köstlin R.G. *Atlas de clínica oftalmológica do cão e do gato*. 2nd ed. Editora Manole Ltda, 1998; 175-216.
23. Petersen-Jones S.M., Clements P.J.M., Barnett K.C., Sargan D.R. Incidence of the gene mutation causal for rod-cone dysplasia type 1 in Irish Setters in the UK. *J Small Anim Pract*. 1995; 36: 310-314.
24. Wang W, Zhang Q, Acland GM, Mellersh C, Ostrander EA, Ray K, Aguirre GD. Molecular characterization and mapping of canine cGMP-phosphodiesterase delta subunit (PDE6D). *Gene* 1999; 236(2): 325-332.
25. Zhang Q, Pearce-Kelling S, Acland GM, Aguirre GD, Ray K. Canine rod-photoreceptor cGMP-gated channel protein α -subunit: studies on the expression of the gene and characterization of the cDNA. *Exp Eye Res* 1997; 65: 301-309.
26. Akhmedov NB, Baldwin VJ, Zangerl B, Kijas JW, Hunter L, Minoofar KD, Mellersh C, Ostrander EA, Acland GM, Farber DB, Aguirre GD. Cloning and characterization of the canine photoreceptor specific cone-rod homeobox (CRX) gene and evaluation as a candidate for early onset photoreceptor diseases in the dog. *Mol Vis* 2002; 8: 79-84.
27. Ray K, Wang W, Czarnecki J, Zhang Q, Acland GM, Aguirre GD. Strategies for identification of mutations causing hereditary retinal diseases in dogs: evaluation of opsin as a candidate gene. *J Hered* 1999; 90(1): 133-137.
28. McLaughlin ME, Sandberg MA, Berson EL, Dryja TP. Recessive mutations in the gene encoding the β -subunit of rod phosphodiesterase in patients with retinitis pigmentosa. *Nature Genetics* 1993; 4: 130-134.
29. Qin N, Baehr W. Expression and mutagenesis of mouse rod photoreceptor cGMP phosphodiesterase. *J Biol Chem* 1994; 269(5): 3265-3271.
30. Tsang SH, Gouras P, Yamashita CK, Kjeldbye H, Fisher J, Farber DB, Goff SP. Retinal degeneration in mice lacking the γ subunit of the rod cGMP phosphodiesterase. *Science* 1996; 272: 1026-1029.

31. Morrow EM, Furukawa T, Cepko CL. Vertebrate photoreceptor cell development and disease. *Cell Biol* 1998; 8: 353-358.
32. Chader GJ. Animal mutants of hereditary retinal degeneration: general considerations and studies on defects in cyclic nucleotide metabolism. *Prog Vet Comp Ophthalmol* 1991; 1(2): 109-126.
33. Aguirre G.D., Baldwin V., Weeks K.M., et al. Frequency of the codon 807 mutation in the cGMP phosphodiesterase beta subunit gene in Irish Setters and other dog breeds with hereditary retinal degeneration. *J Hered* 1999; 90: 143-147.
34. Buyukmilci N, Aguirre GD, Marshall J. Retinal degenerations in the dog II. Development of the retina in rod-cone dysplasia. *Exp Eye Res* 1980; 30: 575-591.
35. Farber DB, Brown BM, Lolley RN. Cyclic GMP: proposed role in visual cell function. *Exp Eye Res* 1978; 18: 497-499.
36. Liu W, Clark WA, Sharma P, Northup JK. Mechanism of allosteric regulation of the rod cGMP phosphodiesterase activity by the helical domain of transducin α subunit. *J Biol Chem* 1998; 273(51): 34284-34292.
37. Liu W, Northup. The helical domain of a G protein α subunit is a regulator of its effector. *Proc Natl Acad Sci* 1998; 95: 12878-12883.
38. Barbehenn E, Gagnon C, Noelker D, Aguirre GD, Chader G. Inherited rod-cone dysplasia: abnormal distribution of cyclic GMP in visual cells of affected Irish Setters. *Exp Eye Res* 1988; 46: 149-159.
39. Aguirre GD, Farber D, Lolley R, O'Brien P, Alligood J, Fletcher T, Chader G. Retinal degenerations in the dog III. Abnormal cyclic nucleotide metabolism in rod-cone dysplasia. *Exp Eye Res* 1982; 35: 625-642.
40. Lee RH, Lieberman BS, Hurwitz RL, Lolley RN. Phosphodiesterase-probes show distinct defects in rd mice and Irish Setter dog disorders. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1985; 26: 1569-1579.
41. Acland GM, Fletcher RT, Gentleman S, Chader GJ, Aguirre GD. Non-allelism of three genes (rd1, rd2 and erd) for early-onset hereditary retinal degeneration. *Exp Eye Res* 1989; 49: 983-998.

42. Wang W, Acland GM, Ray K, Aguirre GD. Evaluation of cGMP-phosphodiesterase (PDE) subunits for causal association with rod-cone dysplasia 2 (rdc2), a canine model of abnormal retinal cGMP metabolism. *Exp Eye Res* 1999; 69: 445-453.
43. Curtis R., Barnett K.C. Progressive retinal atrophy in Miniature Longhaired Dachshund Dogs. *British Veterinary Journal* 1993; 149: 71-85.
44. Acland GM, Aguirre D. Retinal degenerations in the dog: IV. Early retinal degeneration (erd) in Norwegian Elkhounds. *Exp Eye Res.* 1987; 44: 491-521.
45. Aguirre GD. Retinal degenerations in the dog I. Rod dysplasia. *Exp Eye Res* 1978; 26: 233-253.
46. Akhmedov NB, Piriev NI, Ray K, Acland GM, Aguirre GD, Farber DB. Structure and analysis of the transducin β 3-subunit gene, a candidate for inherited cone degeneration (cd) in the dog. *Gene* 1997; 47-56.
47. Millichamps N.J., Curtis R., Barbett K.C. Progressive retinal atrophy in Tibetan Terriers. *J. Am Vet Med Assoc* 1988; 192: 769-776.
48. Kemp CM, Jacobson SG. Rhodopsin levels in the central retinas of normal miniature poodles and those with progressive rod-cone degenerations. *Exp Eye Res* 1992; 54(6): 947-956.
49. Toole DO, Roberts S. Generalized progressive retinal atrophy in two akita dogs. *Vet Pathol* 1984; 21: 457-462.
50. Zhang Q., Acland G.M., Parshall C.J., Haskell J., Ray K., Aguirre G.D. Characterization of canine photoreceptor phosphodiesterase cDNA and identification of a sequence variant in dogs with photoreceptor dysplasia. *Gene* 1998; 215: 231-239.
51. Aguirre GD, O'Brien. Morphological and biochemical studies of canine progressive rod-cone degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1986; 27(5): 635-655.
52. Aguirre GD, Rubin LF. Progressive retinal atrophy in the miniature poodle: an electrophysiologic study. *J Am Vet Med Assoc* 1972; 160(2): 191-201.
53. Sandberg MA, Pawlyk BS, Berson EL. Full-field electroretinograms in miniature poodles with progressive rod-cone degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1986; 27: 1179-1184.

54. Aguirre GD, Acland GM. Variation in retinal degeneration phenotype inherited at the *prcd* locus. *Exp Eye Res* 1988; 46: 663-687.
55. Bjerkas E. Generalized progressive retinal atrophy in the English Setter in Norway. *Vet Rec* 1990; 126: 21
56. Zeiss CJ, Acland GM, Aguirre GD. Retinal pathology of canine X-linked progressive retinal atrophy, the locus homologue of RP3. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40(13): 3292-3304.
57. Kommonen B, Karhunen U. A late receptor dystrophy in the labrador retriever. *Vision Res* 1990; 30(2): 207-213.
58. Kommonen B, Raitta C. Electroretinography in Labrador Retrievers given ketamine-xylazine anesthesia. *Am J Vet Res* 1987; 48(9): 1325-1331.
59. Kommonen B, Kylmä T, Karhunen U, Dawson WW, Penn JS. Impaired retinal function in young Labrador Retriever dogs heterozygous for late onset rod-cone degeneration. *Vis Res* 1997; 37(3): 365-370.
60. Narfström K, Ekesten B. Electroretinographic evaluation of Papillons with and without hereditary retinal degeneration. *Am J Vet Res* 1998; 59(2): 221-226.
61. Kijas JW, Cideciyan AV, Aleman TS, Pianta MJ, Pearce-Kelling SE, Miller BJ, Jacobson SG, Aguirre GD, Acland GM. Naturally occurring rhodopsin mutation in the dog causes retinal dysfunction and degeneration mimicking human dominant retinitis pigmentosa. *Neurobiol* 2002; 99(9): 6328-6333.
62. Blackshaw S, Fraioli RE, Furukawa T, Cepko CL. Comprehensive analysis of photoreceptor gene expression and the identification of candidate retinal disease genes. *Cell* 2001; 107: 579-589.
63. Glazier AM, Nadeau JH, Aitman TJ. Finding genes that underlie complex traits. *Science* 2002; 298: 2345-2349.
64. Peltonen L, McKusick VA. Dissecting human disease in the postgenomic era. *Science* 2001; 291(5507): 1224-1229.
65. Dekomien G, Epplen JT. The canine Phosducin gene: characterization of the exon-intron structure and exclusion as a candidate gene for generalized progressive retinal atrophy in 11 dog breeds. *Mol Vis* 2002; 8: 138-142.

66. Lin CT, Petersen-Jones SM, Sargan DR. Isolation and investigation of canine phosphodiesterase-6 as a candidate for canine generalized progressive retinal atrophies. *Exp Eye Res* 1998; 67: 473-480.
67. Dekomien G, Epplen JT. Exclusion of the PDE6A gene for generalised progressive retinal atrophy in 11 breeds of dog. *Anim Genet* 2000; 31: 135-139.
68. Klein W, Dekomien G, Holmes N, Epplen JT. Evaluation of ROM1 as a candidate gene in generalised progressive retinal atrophy in dogs. *Anim Genet* 1998; 29: 316-318.
69. Runte M, Dekomien G, Epplen JT. Evaluation of RDS/Peripherin and ROM1 as candidate genes in generalised progressive retinal atrophy and exclusion of digenic inheritance. *Anim Genet* 2000; 31: 223-227.
70. Gould DJ, Petersen-Jones SM, Sohal A, Barnett KC, Sargan DR. Investigation of the role of opsin gene polymorphism in generalized progressive retinal atrophies on dogs. *Anim Genet* 1995; 26: 261-267.
71. Kylmä T, Paulin L, Hurwitz MY, Hurwitz RL, Kommonen B. Cloning and analysis of the cDNA encoding the rod G-protein transducin α , β 1 and γ 1 subunits from the canine retina. *Gene* 1997; 193: 1-4.
72. Ray K, Baldwin VJ, Zeiss C, Acland GM, Aguirre GD. Canine rod transducin α -1: cloning of the cDNA and evaluation of the gene as a candidate for progressive retinal atrophy. *Curr Eye Res* 1997; 16: 71-77.
73. Acland GM, Ray K, Mellersh CS, Gu W, Langston AA, Rine J, Ostrander EA, Aguirre GD. Linkage analysis and comparative mapping of canine progressive rod-cone degeneration (prcd) establishes potential locus homology with retinitis pigmentosa (RP17) in humans. *Proc Natl Acad Sci* 1998; 95: 3048-3053.
74. Holmes NG, Wood JLN, Binns MM. DNA markers for generalised PRA in labrador retrievers. *Vet Rec* 1999; 144: 160.
75. Acland G.M. Diagnosis and differentiation of retinal diseases in small animals by electroretinography. *Sem Vet Med Surg*. 1988; 3: 15-27.
76. Aguirre GD. Electroretinography in Veterinary Ophthalmology. *J Am Anim Hosp Assoc* 1973; 9: 234-237.

77. Sims M.H. Electrodiagnostic evaluation of vision (cap.12) – Gellat K.N. ed *Textbook of veterinary ophthalmology* 3rd ed. Philadelphia: Williams and Williams 1998; 483-507.
78. Berson E.L. Fenómenos eléctricos de la retina (cap.21) - Hart, W.M. *Adler Fisiología del Ojo*. 9^{na} ed. Mosby-Doyma Libros 1994; 644-711.
79. Yanase J, Ogawa H, Ohtsuka H. Rod and cone components in the dog electroretinogram during and after dark adaptation. *J Vet Med Sci* 1995; 57(5): 877-881.
80. Yanase J, Ogawa H. Effects of halothane and sevoflurane on the electroretinogram of dogs. *Am J Vet Res* 1997; 58(8): 904-909.
81. Sims MH, Brooks DE. Changes in oscillatory potentials in the canine electroretinogram during dark adaptation. *Am J Vet Res* 1990; 51(10): 1580-1586.
82. Phelan JK, Bok D. A brief review of retinitis pigmentosa and the identified retinitis pigmentosa genes. *Mol Vis* 2000;6:116-124.
83. Peruccio C. Incidence of the pathology of the fundus of the eye in dogs and cats: an evaluation of 2000 dogs and 300 cats. *J Am Anim Hosp Assoc* 1980; 16: 155-161.
84. Willis MB. Genetics of the Eye. ed *Genetics of the dog* Howell Book House 1st ed. 1989: 201-229.
85. Maroudas P, Jobling A, Augusteyn RC. Genetic screening for progressive retinal atrophy in the Australian population of Irish Setters. *Aust Vet J* 2000; 78: 773-774.

X. FIGURAS

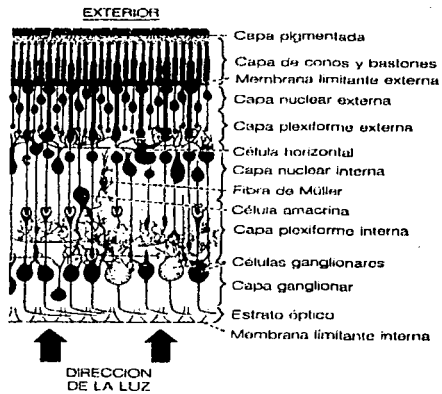


Figura 1 – Capas de la retina

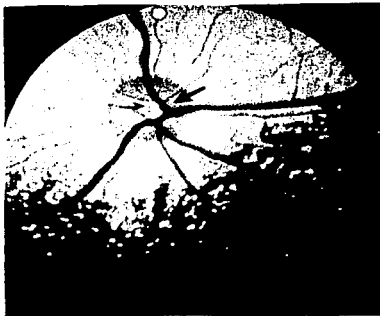


Figura 2 – Fondo de ojo normal (izquierda, flechas enseñan vasos normales) y fondo de ojo con atrofia progresiva de la retina (derecha)

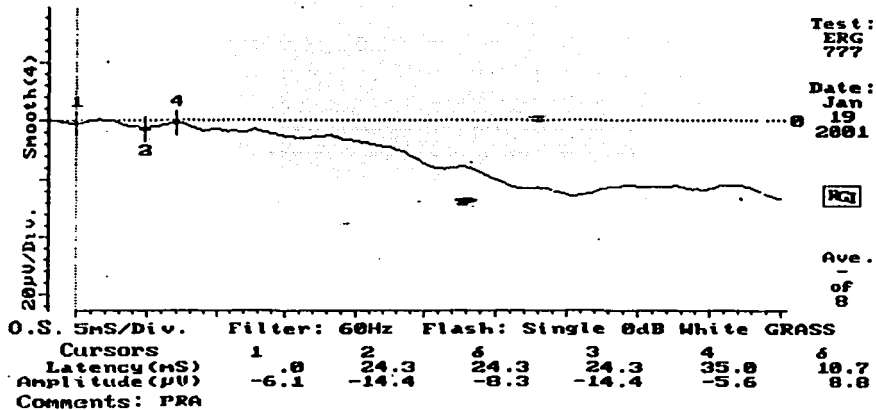
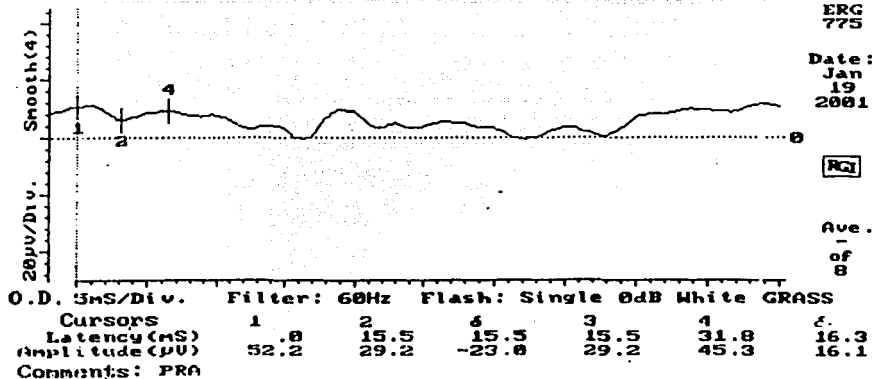


Figura 3 – ERG anormal de un animal con atrofia progresiva de la retina (ojo derecho e izquierdo)

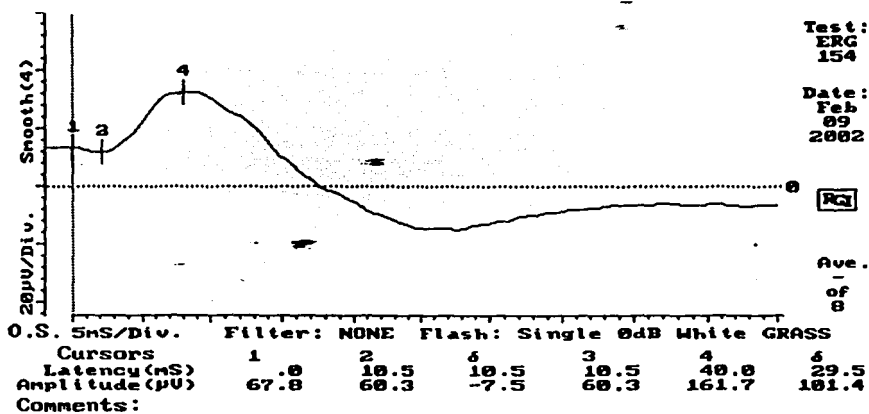
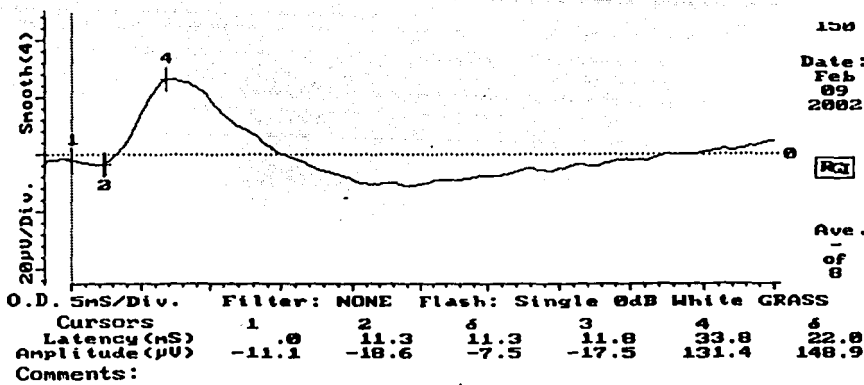
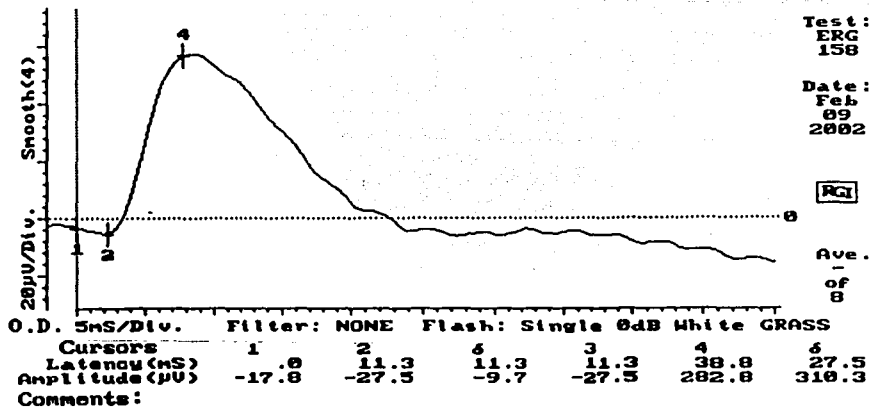
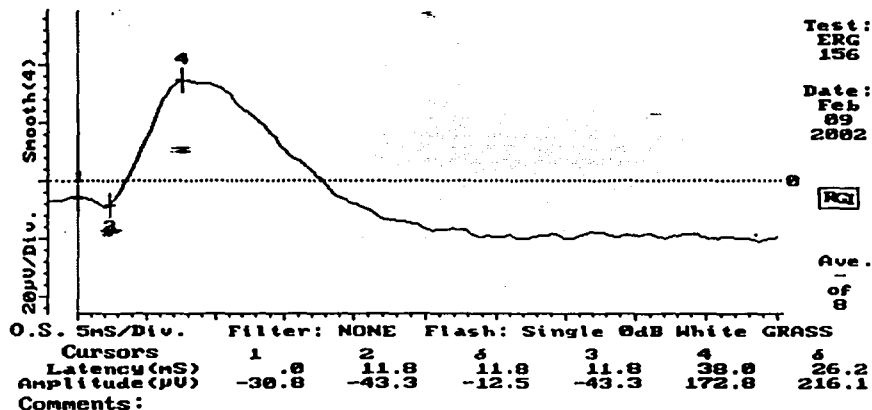


Figura 4 A – ERG normal, registro inmediatamente en la oscuridad (ojo derecho e izquierdo)



Dark-Adapt: 5 min.



Dark-Adapt: 5 min.

Figura 4 B - ERG normal, registro después de 5 minutos de adaptación en la oscuridad (ojo derecho e izquierdo)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

XI. CUADROS

1 - GENES CANDIDATOS YA INVESTIGADOS EN ALGUNAS DE LAS RAZAS MÁS PREDISPUESITAS

Raza	Genes candidatos a la Atrofia Progresiva de la Retina								
	FDE 6 α	FDE 6 β	FDE 6 δ	FDE 6 γ	Opsina	RDS- Periferina	ROM I	FDC	Transducina
Basenji	O	X	O	O	X	O	O	O	O
Cardigan Welsh Corgi	mutación	O	O	O	O	O	O	O	O
Cazadores alces noruegos	O	X	O	O	X	O	O	O	X
Cocker Spaniel	X	X	O	O	X	X	O	X	O
Collie	X	X	X	X	X	O	X	X	X
Dachshund	X	X	O	O	O	X	X	X	O
French Poodle	X	X	O	O	X	X	X	X	X
Ganadero Australiano	X	O	O	O	O	X	X	O	O
Golden Retriever	O	O	O	O	O	O	O	X	O
Labrador	X	X	O	O	X	X	X	X	X
Malamute de Alaska	O	X	O	O	O	O	O	O	O
Papillon	O	X	O	O	O	O	O	O	O
Schnauzer Miniatura	O	X	O	O	X	X	X	posible mutación	O
Setter Irlandés	O	mutación	O	O	X	O	O	O	O
Sloughi	X	mutación	O	O	O	X	X	O	O
Yorkshire Terrier	X	X	O	O	O	X	O	O	O

X: GEN CANDIDATO INVESTIGADO Y DESCARTADO COMO CAUSANTE DE LA APR.

O: GEN CANDIDATO NO INVESTIGADO.

FDE6 α : GEN FOSFODIESTERASA 6 SUBUNIDAD α

FDE6 β : GEN FOSFODIESTERASA 6 SUBUNIDAD β

FDE6 δ : GEN FOSFODIESTERASA 6 SUBUNIDAD δ

FDE6 γ : GEN FOSFODIESTERASA 6 SUBUNIDAD γ

FDC: GEN FOSDUCINA

Adaptados de Petersen-Jones (1999), Wang (1999), Ray (1999), Wang (1999*), Zhang (1998), Lin (1998), Runter (2000) y Kylmä (1997)

2- RESULTADOS ESPERADOS UTILIZANDO LA PRUEBA DE OPTIGEN PARA LA DETECCIÓN DE LA ATROFIA PROGRESIVA DE LA RETINA AUTOSÓMICA RECESIVA.

Genotipo	Grupo de riesgo	Interpretación de la prueba para la determinación de la cruce	Riesgo en desarrollar la Atrofia Progresiva de la Retina
A	I – homocigoto normal	El animal puede ser cruzado con perros de cualquier genotipo, con riesgo extremadamente bajo (99.5% de confianza) de producir cachorros afectados.	Se espera que no desarrollen la enfermedad, con un riesgo extremadamente bajo (menor que 0.0025%).
B	II – heterocigoto portador	Probabilidad de ser portador de la enfermedad con un 99% de confianza, en donde el animal debe de ser cruzado sólo con animales con genotipo A para reducir los riesgos de la producción de animales afectados.	Se espera que no desarrollen la enfermedad, con un riesgo muy bajo menor que 0.5%.
C	III – homocigoto afectado	Probabilidad de ser homocigoto afectado con un 99.5% de confianza, en donde los animales deben de ser cruzados sólo con animales con genotipo A para la reducción de los riesgos en la producción de animales afectados.	Probabilidad muy alta de que los cachorros desarrollarán la atrofia progresiva de la retina, con sólo 0.5% de chance de no se presentaren afectados.

3 – RESULTADOS ESPERADOS EN LAS ESTRATEGIAS DE CRUZA UTILIZANDO LAS PRUEBAS DE OPTIGEN PARA PERROS CON ATROFIA PROGRESIVA DE LA RETINA AUTOSÓMICA RECESIVA.

Patrón 1	A (Normales)	Patrón 2 B (Portadores)	C (Afectados)
A (Normales)	Todos = patrón A	½ = patrón A ½ = patrón B	Todos = patrón B
B (Portadores)	½ = patrón A ½ = patrón B	¼ = patrón A ½ = patrón B ¼ = patrón C	½ = patrón B ½ = patrón C
C (Afectados)	Todos = patrón B	½ = patrón B ½ = patrón C	Todos = patrón C

4 – RESULTADOS ESPERADOS EN LAS ESTRATEGIAS DE CRUZA UTILIZANDO LAS PRUEBAS DE OPTIGEN PARA PERROS CON ATROFIA PROGRESIVA DE LA RETINA AUTOSÓMICA DOMINANTE.

Genotipo 1	Homocigoto normal NN	Genotipo 2 Heterocigoto afectado ND	Homocigoto afectado DD
Homocigoto normal NN	Todos normales NN	½ homocigoto normal NN ½ heterocigoto afectado ND	Todos heterocigotos afectados ND
Heterocigoto afectado ND	½ homocigoto normal NN ½ heterocigoto afectado ND	¼ homocigoto normal NN ½ heterocigoto afectado ND ¼ homocigoto afectado DD	½ heterocigoto afectado ND ½ homocigoto afectado DD
Homocigoto afectado DD	Todos heterocigotos afectados ND	½ heterocigoto afectado ND ½ homocigoto afectado DD	Todos homocigoto afectado DD

5 – RESULTADOS ESPERADOS UTILIZANDO LA PRUEBA DE OPTIGEN PARA LA DETECCIÓN DE LA ATROFIA PROGRESIVA DE LA RETINA LIGADA AL X.

Resultados	Genotipo	Interpretación de la prueba para la determinación de la craza	Riesgo en desarrollar la Atrofia Progresiva de la Retina
N	Normal	Las hembras normales pueden ser cruzadas con cualquier macho, sin embargo los machos normales deben de ser cruzados sólo con hembras normales.	Nunca desarrollarán la atrofia progresiva de la retina ligada al X.
C	Portador	Las hembras portadoras no deben de ser cruzadas (sólo las hembras son portadoras en este tipo de enfermedad).	Nunca desarrollarán la atrofia progresiva de la retina ligada al X.
A	Afectado	Los machos afectados deben de ser cruzados sólo con hembras normales. Las hembras afectadas no deben de ser cruzadas, aunque estas son raras pues necesitarían que ambas copias estuvieran alteradas.	Tienen o van a desarrollar la atrofia progresiva de la retina ligada al X.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

6 - RESULTADOS ESPERADOS EN LAS ESTRATEGIAS DE CRUZA UTILIZANDO LAS PRUEBAS DE OPTIGEN PARA PERROS CON ATROFIA PROGRESIVA DE LA RETINA LIGADA AL X.

Macho	Hembra		
	XnXn (normal)	XnXa (portador)	XaXa (afectado)
XnY (normal)	Todas hembras y machos normales	$\frac{1}{2}$ = hembras normales $\frac{1}{2}$ = hembras portadoras $\frac{1}{2}$ = machos normales $\frac{1}{2}$ = machos portadores	Todas hembras portadoras Todos machos afectados
XaY (afectado)	Todas hembras portadoras Todos machos normales	$\frac{1}{2}$ = hembras portadoras $\frac{1}{2}$ = hembras afectadas $\frac{1}{2}$ = machos normales $\frac{1}{2}$ = machos afectados	Todos machos y hembras afectados.

Xn = cromosoma X con gene para la APR normal.

Xa = cromosoma X con gene para la APR con mutación.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

7 - RELACIÓN DE LOS ANIMALES EXAMINADOS

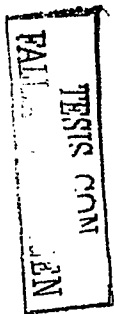
Identificación	Raza	Edad	Sexo	Cambios oftalmológicos	Diagnostico clínico
101	Setter Irlandés	2 años	macho	fondo de ojo normal	Normal
102	Setter Irlandés	8 meses	macho	fondo de ojo normal	Normal
103	Setter Irlandés	4 años	macho	fondo de ojo normal	Normal
104	Setter Irlandés	8 años	macho	fondo de ojo normal	Normal
105	Setter Irlandés	4 años	macho	fondo de ojo normal	Normal
106	Setter Irlandés	3 años	hembra	fondo de ojo normal	Normal
107	Setter Irlandés	2 años	macho	fondo de ojo normal	Normal
108	Setter Irlandés	1 años	macho	fondo de ojo normal	Normal
109	Setter Irlandés	2 años	macho	fondo de ojo normal	Normal
110	Setter Irlandés	6 años	macho	fondo de ojo normal	Normal
111	Setter Irlandés	2 años	hembra	fondo de ojo normal	Normal
112	Setter Irlandés	3 años	macho	fondo de ojo normal	Normal
113	Setter Irlandés	8 años	macho	fondo de ojo normal	Normal
114	Setter Inglés	6 años	hembra	fondo de ojo normal	Normal

(continua)

TESIS CON
FALTA DE CUBIEN

201	Cocker Spaniel	10 años	hembra	disminución del reflejo pupilar y ERG extinguido.	APR
202	Cocker Spaniel	10 años	macho	disco óptico pálido, atenuación de los vasos de la retina y hiperrefractividad	APR
203	Cocker Spaniel	7 años	macho	atenuación de los vasos de la retina, hiperrefractividad, ERG disminuido	APR
301	French Poodle	12 años	hembra	disminución del reflejo pupilar, cataratas y ERG extinguido.	APR
302	French Poodle	4 años	macho	ausencia del reflejo pupilar, ausencia de vasos y hiperrefractividad	APR
303	French Poodle	8 años	macho	atenuación de los vasos de la retina y áreas de hiperrefractividad	APR
304	French Poodle	6 años	hembra	ausencia del reflejo pupilar, cataratas y ERG extinguido.	APR
305	French Poodle	7 años	hembra	disco óptico pálido, atenuación de los vasos de la retina y hiperrefractividad	APR
306	French Poodle	4 años	macho	ausencia del reflejo pupilar, ausencia de vasos y hiperrefractividad	APR
307	French Poodle	11 años	macho	ausencia del reflejo pupilar, ausencia de vasos y hiperrefractividad	APR
401	Yorkshire Terrier	7 años	macho	disminución del reflejo pupilar y ERG extinguido.	APR
402	Yorkshire Terrier	8 años	macho	ausencia del reflejo pupilar, cataratas y ERG extinguido.	APR
501	Schnauzer Miniatura	8 años	hembra	ausencia del reflejo pupilar, ausencia de vasos y hiperrefractividad	APR
502	Schnauzer Miniatura	4 años	macho	disco óptico pálido y atenuación de los vasos de la retina	APR

APR: atrofia progresiva de la retina.



8 - DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES QUE COMPARECIERON AL HOSPITAL DE ESPECIALIDADES POR RAZA Y POR MOTIVO DE CONSULTA

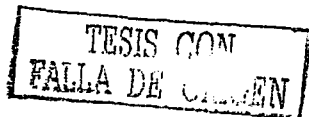
Raza	Motivo de la consulta		Total (100%)
	no oftalmología (%)	oftalmología (%)	
Collie / otras	675 (70.8)	279 (29.2)	954
Cocker Spaniel	94 (66.7)	47 (33.3)	141
French Poodle	174 (64.4)	96 (35.6)	270
Schnauzer Miniatura	72 (74.2)	25 (25.8)	97
Yorkshire Terrier	37 (80.4)	9 (19.6)	46
Total	1052 (69.8)	456 (30.2)	1508

9 - DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES OFTALMOLÓGICOS POR RAZA Y PRESENCIA DE APR

Raza	APR		Total (100%)
	no (%)	si (%)	
Otras	277 (100)		277
Cocker Spaniel	43 (91.5)	4 (8.5)	47
Collie	1 (50)	1 (50)	2
French Poodle	88 (91.7)	8 (8.3)	96
Schnauzer Miniatura	22 (88)	3 (12)	25
Yorkshire Terrier	7 (77.8)	2 (22.2)	9
Total	438 (96.1)	18 (3.9)	456

10 - DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES OFTALMOLÓGICOS POR SEXO Y PRESENCIA DE APR

Sexo	APR		Total (100%)
	no (%)	si (%)	
Hembra	218 (97.3)	6 (2.7)	224
Macho	220 (94.8)	12 (5.2)	232
Total	438 (96.1)	18 (3.9)	456



11 - ERG DEL GRUPO I-A ENSEÑANDO VALORES DE LAS ONDAS A Y B ANORMALES

Animal	Ojo	Inmediato			
		latencia a (mS)	amplitud a (uV)	latencia b (mS)	amplitud b (uV)
201	O.D.	5.5	-2.8	3.8	1.4
	O.S.	7.5	-1.4	11.8	3.9
202	O.D.	57.5	-22.2	23	13.6
	O.S.	6.8	-5.5	2	3.6
203	O.D.	5	1.1	4.3	1.1
	O.S.	6.3	-3.9	3	0.6
301	O.D.	24.3	-18.1	12	0.8
	O.S.	5	1.7	8.8	28
302	O.D.	5	-17.5	10	51.6
	O.S.	2.5	3.3	27.5	9.7
303	O.D.	15.5	-23	16.3	16.1
	O.S.	24.3	-8.3	10.7	8.8
304	O.D.	11.3	-14.1	15.5	26.1
	O.S.	12.5	-7.8	16.8	4.2
305	O.D.	15	-2.5	20	3.1
	O.S.	6.8	-6.1	10	5.6
306	O.D.	8	-10.8	17.5	33.3
	O.S.	11.8	-22.5	15	63.6
307	O.D.	4.3	2.2	11.2	1.1
	O.S.	9.3	-7.8	23.7	12.5
401	O.D.	9.3	-0.9	21.2	8.1
	O.S.	5	-0.3	6.3	3.1
402	O.D.	9.3	-5.3	12	9.4
	O.S.	1.3	-0.6	4.2	1.1
501	O.D.	1.3	2.3	7.5	6.1
	O.S.	14.3	-4.4	6.2	2.5
502	O.D.	2.5	1.1	8.8	3.6
	O.S.	5.5	1.4	16.3	2.8

TESTE COIT
FALLA DE CALIBRACION

12 – ERG DEL GRUPO III ENSEÑANDO VALORES DE LAS ONDAS A Y B INMEDIATAMENTE EN LA OSCURIDAD Y DESPUÉS DE 5 MINUTOS DE ADAPTACIÓN EN LA OSCURIDAD

Animal	Ojo	Inmediato				5 minutos de adaptación en la oscuridad			
		latencia a (mS)	amplitud a (uV)	latencia b (mS)	amplitud b (uV)	latencia a (mS)	amplitud a (uV)	latencia b (mS)	amplitud b (uV)
101	O.D.	10	2.2	18.8	107.8	9.3	-5.3	22	95.3
	O.S.	9.3	-29.1	22	166.6	8.8	-19.1	23	136.6
102	O.D.	11.3	-7.5	22	148.9	11.3	-9.7	27.5	310.3
	O.S.	10.5	-7.5	29.5	101.4	11.8	-12.5	26.2	216.1
103	O.D.	11.8	-17.5	16.2	98.9	9.3	-19.7	22.5	83.3
	O.S.	12.5	-22.5	14.3	88.9	11.8	-35.8	20	122.8
104	O.D.	13	-3.9	22	57.2	15.5	-4.5	21.3	50.9
	O.S.	13	-0.6	28.3	49.5	13.8	-1.4	25	61.4
105	O.D.	8.8	-32.5	16.2	129.2				
	O.S.	8	-7.8	17.5	135				
106	O.D.	11.3	-15	13.7	83.3				
	O.S.	11.8	-19.2	15	29.2				
107	O.D.	11.8	-26.9	12.5	70.7	10.5	-44.7	17	156.1
	O.S.	11.8	-20	13.2	64.8	11.3	-33.2	23.7	153.5
108	O.D.	10.5	-45	17	144.4	11.8	-34.6	16.2	86
	O.S.	11.3	-50.7	16.2	157.4	11.8	-35.7	15.7	94.1
109	O.D.	11.3	-28.2	20.5	84.5	5.5	-17.7	23.3	92.5
	O.S.	15	-29.1	14.3	61.5	11.8	-31.1	18.2	96.6
110	O.D.	10	-21.4	15.5	66.6	10.5	-12.7	13.8	23.4
	O.S.	12.5	-12.7	11.8	73.8	10	-20.3	14.3	90.4
111	O.D.	7.5	-14	18.8	58.4	10.5	-20.4	15	120.6
	O.S.	10	-44.6	17.5	175.6	10	-26.8	18	148.6
112	O.D.	10	-35	18	87.6	13	-27.1	12.5	62.2
	O.S.	11.8	-27.1	15	65.3	4.3	-17.6	22.5	47.1
113	O.D.	11.8	-2.8	23.7	92.8	12.5	-34.2	16.3	167.2
	O.S.	13.8	-6.4	20.5	66.6	11.8	-44.1	16.2	125
114	O.D.	6.3	6.7	5	18.6	14.3	-8	24.5	92.2
	O.S.	9.3	-5.3	14.5	12	19.3	-35.5	18.7	82.2

TESIS CON
FALTA DE CUBIEN

13 - ANÁLISIS DE LOS VALORES DE LA ONDA b PARA EL OJO DERECHO
(GRUPO ENFERMO vs. SANO III)

	APR	Número	Media	D.E.	E.E. Media
Latencia onda b (mS)	sanos	14	17.1357 a	4.7477	1.2689
	enfermos	14	13.0786 a	6.0511	1.6172
Amplitud onda b (uV)	sanos	14	89.2071 a	35.6625	9.5312
	enfermos	14	12.5286 b	14.9823	4.0042

D.E. Desviación Estándar

E.E. Error Estándar

Literales diferentes indican diferencia estadísticamente significativos ($p < 0.000$)

14 - ANÁLISIS DE LOS VALORES DE LA ONDA b PARA EL OJO IZQUIERDO
(GRUPO ENFERMO vs. SANO III)

	APR	Número	Media	D.E.	E.E. Media
Latencia onda b (mS)	sanos	14	17.8286 a	5.4281	1.4507
	enfermos	14	11.5929 b	7.5919	2.029
Amplitud onda b (uV)	sanos	14	89.1143 a	51.2694	13.7023
	enfermos	14	10.7143 b	16.7608	4.4795

D.E. Desviación Estándar

E.E. Error Estándar

Literales diferentes indican diferencia estadísticamente significativos ($p < 0.05$)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

15 – COMPARACIÓN DE LOS VALORES DE LA ONDA b ENTRE EL OJO DERECHO E IZQUIERDO DEL GRUPO I-A
(ANIMALES CLINICAMENTE ENFERMOS)

Diferencia del ojo derecho con el ojo izquierdo				Intervalo de confianza para la diferencia al 95%				Significado (dos-colas)
	Media	D.E.	E.E.media	Inferior	Superior	t	g.l.	
Latencia de la onda b (mS)	1.4857	10.483	2.8017	-4.567	7.5384	0.53	13	0.605
Amplitud de la onda b (uV)	1.81E+00	18.0822	4.8327	-8.6261	12.2546	0.375	13	0.713

D.E. Desviación Estándar

E.E. Error Estándar

16 -- COMPARACIÓN DE LOS VALORES DE LA ONDA b ENTRE EL OJO DERECHO E IZQUIERDO DEL GRUPO III
(SETTER IRLANDESES CLINICAMENTE NORMALES)

Diferencia del ojo derecho con el ojo izquierdo				Intervalo de confianza para la diferencia al 95%				Significado (dos-colas)
	Media	D.E.	E.E.media	Inferior	Superior	t	g.l.	
Latencia de la onda b (mS)	-0.6929	4.5648	1.22	-3.3285	1.9428	-0.568	13	0.58
Amplitud de la onda b (uV)	9.29E-02	43.4839	11.6216	-25.014	25.1997	0.008	13	0.994

D.E. Desviación Estándar

E.E. Error Estándar

TESIS CON
 FALTA DE ORIGEN

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

17 - COMPARACIÓN DE LOS VALORES DE LA ONDA b PARA EL OJO DERECHO E IZQUIERDO OBTENIDOS ANTES Y DESPUÉS DEL PERIODO DE ADAPTACIÓN EN LA OSCURIDAD EN EL GROUP III (SETTER IRLANDESES CINICAMENTE NORMALES)

Diferencia de la onda b antes y después del periodo de adaptación a la oscuridad	Intervalo de confianza para la diferencia al 95%						Significado (dos-colas)	
	Media	D.E.	E.E.media	Inferior	Superior	t	g.l.	
Latencia del ojo derecho	-1.825	7.0841	2.045	-6.326	2.676	-0.892	11	0.391
Amplitud del ojo derecho	-25.3	65.3024	18.8512	-66.7912	16.1912	-1.342	11	0.207
Latencia del ojo izquierdo	-1.95E+00	4.6046	1.3292	-4.8756	0.9756	-1.467	11	0.17
Amplitud del ojo izquierdo	-2.08E+01	58.0875	16.7684	-57.7154	16.0987	-1.241	11	0.24

D.E. Desviación Estándar

E.E. Error Estándar

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

18 - FRECUENCIA DE LOS CODONES PRESENTES EN EL ADN CANINO

AMINOACIDOS	CODON	NÚMERO	/1000	FRACCIÓN
Gly	GGG	532.00	19.52	0.28
Gly	GGA	377.00	13.83	0.20
Gly	GGT	260.00	9.54	0.14
Gly	GGC	747.00	27.41	0.39
Glu	GAG	1036.00	38.02	0.67
Glu	GAA	516.00	18.94	0.33
Asp	GAT	404.00	14.83	0.33
Asp	GAC	807.00	29.61	0.67
Val	GTG	911.00	33.43	0.50
Val	GTA	128.00	4.70	0.07
Val	GTT	219.00	8.04	0.12
Val	GTC	555.00	20.37	0.31
Ala	GCG	291.00	10.68	0.15
Ala	GCA	343.00	12.59	0.18
Ala	GCT	441.00	16.18	0.23
Ala	GCC	874.00	32.07	0.45
Arg	AGG	340.00	12.48	0.22
Arg	AGA	256.00	9.39	0.17
Ser	AGT	232.00	8.51	0.12
Ser	AGC	556.00	20.40	0.28
Lys	AAG	873.00	32.04	0.68
Lys	AAA	414.00	15.19	0.32
Asn	AAT	341.00	12.51	0.34
Asn	AAC	659.00	24.18	0.66
Met	ATG	632.00	23.19	1.00
Ile	ATA	155.00	5.69	0.12
Ile	ATT	324.00	11.89	0.25
Ile	ATC	818.00	30.02	0.63
Thr	ACG	283.00	10.39	0.18
Thr	ACA	344.00	12.62	0.22
Thr	ACT	277.00	10.17	0.18
Thr	ACC	634.00	23.27	0.41
Trp	TGG	475.00	17.43	1.00
End	TGA	65.00	2.39	0.61
Cys	TGT	292.00	10.72	0.37
Cys	TGC	487.00	17.87	0.63
End	TAG	16.00	0.59	0.15
End	TAA	25.00	0.92	0.24
Tyr	TAT	263.00	9.65	0.31

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tyr	TAC	577.00	21.17	0.69
Leu	TTG	266.00	9.76	0.09
Leu	TTA	94.00	3.45	0.03
Phe	TTT	362.00	13.28	0.30
Phe	TTC	847.00	31.08	0.70
Ser	TCG	148.00	5.43	0.07
Ser	TCA	219.00	8.04	0.11
Ser	TCT	296.00	10.86	0.15
Ser	TCC	546.00	20.04	0.27
Arg	CGG	353.00	12.95	0.23
Arg	CGA	117.00	4.29	0.08
Arg	CGT	100.00	3.67	0.07
Arg	CGC	348.00	12.77	0.23
Gln	CAG	904.00	33.17	0.78
Gln	CAA	261.00	9.58	0.22
His	CAT	166.00	6.09	0.28
His	CAC	420.00	15.41	0.72
Leu	CTG	1384.00	50.79	0.49
Leu	CTA	121.00	4.44	0.04
Leu	CTT	259.00	9.50	0.09
Leu	CTC	707.00	25.94	0.25
Pro	CCG	221.00	8.11	0.14
Pro	CCA	348.00	12.77	0.22
Pro	CCT	367.00	13.47	0.24
Pro	CCC	617.00	22.64	0.40

FALLA DE ORIGEN

19 – CUADRO CON LAS RAZAS QUE YA DISPONEN DEL TEST DE OPTIGEN

RAZAS	ENFERMEDAD
Australian Cattle Dogs	<i>prcd</i> -PRA test
Bullmastiffs	Dominant PRA test
Cardigan Welsh Corgi	<i>rcd3</i> -PRA test
Chesapeake Bay Retrievers	<i>prcd</i> test 1 for PRA test
English Cocker Spaniels	<i>prcd</i> test 1 for PRA test
German Shorthaired Pointers	CD test
Irish Setters and Irish Red & White Setters	<i>red1</i> -PRA tests
Labrador Retrievers	<i>prcd</i> test 3 for PRA
Mastiffs	Dominant PRA test
Miniature Poodles	<i>prcd</i> -PRA test
Miniature Schnauzers	Type A-PRA test
Nova Scotia Duck Tolling Retrievers	<i>prcd</i> -PRA test
Portuguese Water Dogs	<i>prcd</i> test 1 for PRA test
Samoyeds	XL-PRA test
Siberian Huskies	XL-PRA test
Sloughis	<i>rcd1</i> -PRA test
Toy Poodles	<i>prcd</i> -PRA test

