



# CANIS *et* FELIS

Revista veterinaria profesional  
de animales de compañía

Revista bimestral \* 22 Euros  
Nº 130 - Octubre 2014

5 (2014) - Año XXII



**GENÉTICA DE PERROS Y GATOS: PATOLOGÍAS HEREDITARIAS  
Y OTROS ASPECTOS DE INTERÉS EN LA CLÍNICA VETERINARIA**



**Desde 1989 CIAB laboratorios de análisis  
clínicos veterinarios sigue las normas  
de control y garantía de calidad.**

- Hematología
- Bioquímica
- Parasitología
- Microbiología
- Inmunología
- Diagnóstico por PCR
- Hormonas
- Perfiles funcionales

**Recogemos muestras a nivel local y nacional**



**El laboratorio en tu clínica**

[www.ciab.es](http://www.ciab.es) | [rodrigo@ciab.es](mailto:rodrigo@ciab.es) | 91 361 33 14

C/ Coslada, 12. Bajo Drcha. 28028 Madrid



## CIAB

Centro de  
Investigación y  
Análisis Biológicos

# Patologías hereditarias en el perro

Sevane N<sup>1</sup>, Dunner S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Genética. Dpto. de Producción Animal. Facultad de Veterinaria, UCM.

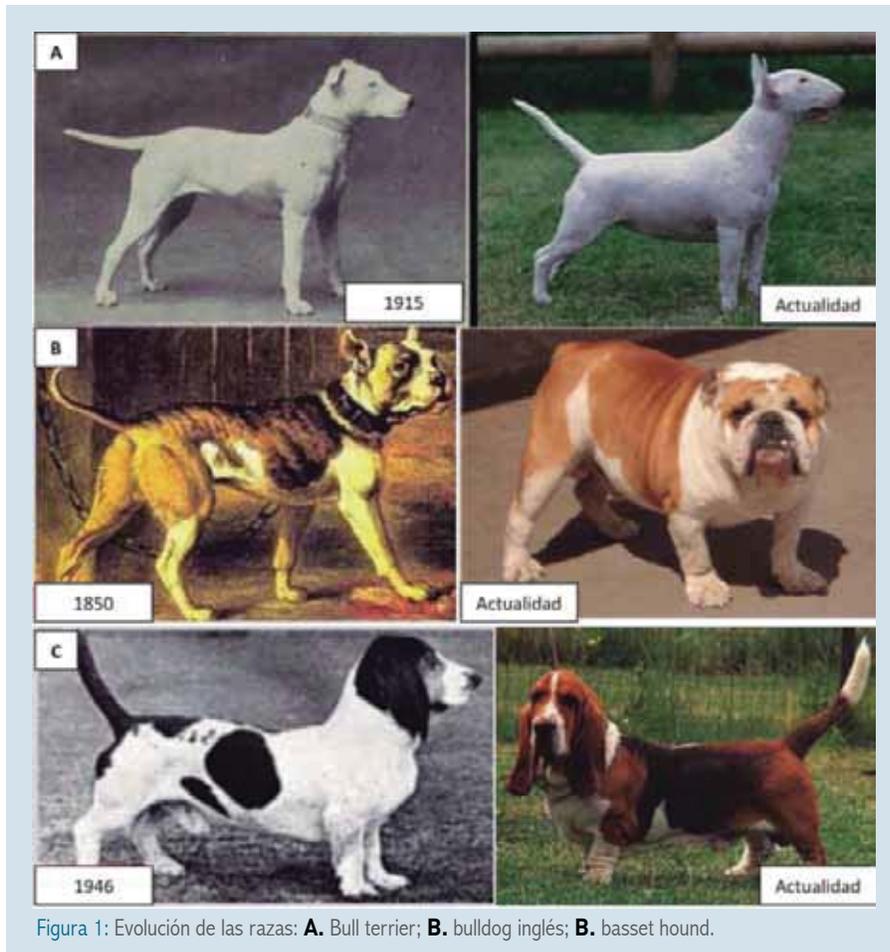
La reducción significativa de la diversidad genética de muchas razas caninas, junto con las prácticas inadecuadas de cruce y la insuficiente presión selectiva hacia caracteres de salud y bienestar, ha convertido a ciertas razas en especialmente susceptibles a un gran número de desórdenes, muchos de los cuales son dolorosos o producen un debilitamiento crónico. El número de patologías y otros caracteres de interés en el perro que tienen diagnóstico genético aumenta casi diariamente, por lo que es importante que los veterinarios clínicos sean conocedores de estos avances mediante la consulta de páginas actualizadas como OMIA (*Online Mendelian Inheritance in Animals*, <http://omia.angis.org.au/home/>). De esta forma, pueden informar y asesorar (consejo genético) a sus clientes para conseguir la eliminación de patologías hereditarias a través de un diseño adecuado de apareamientos entre los reproductores, lo que debería estar incluido en una estrategia global que persiga la disminución del sufrimiento y la mejora del bienestar de estos animales mediante la revisión ética independiente de los planes de manejo de cada raza.

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades relacionadas con determinadas razas caninas a menudo se consideran patologías genéticas, ya que uno de los efectos indirectos de seleccionar por su aspecto estético un número reducido de reproductores que se cruzan con parientes cercanos es la reducción significativa de la diversidad genética, lo que resulta en la prevalencia de enfermedades específicas en una raza particular. Este hecho, junto con la insuficiente presión selectiva hacia caracteres de salud y bienestar, ha convertido a ciertas razas en especialmente susceptibles a un gran número de alteraciones, muchas de las cuales son dolorosas o producen un debilitamiento crónico.

Las razas de perros modernas se originaron, y se siguen originando, a partir de un número relativamente pequeño de animales fundadores, en muchas ocasiones elegidos de diferentes razas con el fin de sumar en la nueva caracteres de interés que aparecen en las originales. Las diferentes "modas" a las que se han visto sometidas desde su formación han hecho evolucionar a las razas hacia distintos objetivos, en muchas ocasiones buscando la exacerbación de los caracteres catalogados como deseables. Ejemplos de estas prácticas se muestran en la *Figura 1*, donde se puede ver la evolución que han sufrido las razas bull terrier, bulldog inglés (muchos de los ejemplares ganadores de concursos de esta raza necesitan ayuda humana en los apareamientos) y basset hound. Para obtener estos resultados, los perros que muestran conformaciones deseables se cruzan dentro de pequeños grupos o líneas para acentuar el carácter que se ha percibido como positivo y los ganadores de concursos se convierten en los progenitores más populares, monopolizando en gran medida los apareamientos, lo que hace que posibles alelos deletéreos portados por ese individuo se distribuyan rápidamente dentro de la raza y tengan una influencia desproporcionada en el subsecuente pool genético (ver capítulo 6 de esta monografía sobre selección y cruzamiento en la mejora genética de las razas caninas).

Una consecuencia de la aplicación de estas estrategias de selección es la norma impuesta por el Kennel Club en Reino Unido, según la cual un perro solo se puede registrar en el libro genealógico de su raza si los progenitores están registrados en dicho libro. Aunque la intención de esas normas es preservar y mejorar las razas, en la práctica han llevado al aislamiento genético de los perros de raza, lo que ha acarreado una disminución considerable de la diversidad genética dentro de las razas. Esto aumenta la probabilidad de que dos individuos aleatorios de la raza estén emparentados y, por tanto, existe una mayor probabilidad de aparición de patologías genéticas raras que se manifiestan en su descendencia. Como se ha explicado en el capítulo 1 de esta monografía (conceptos generales de genética), en los animales hay dos copias de cada gen o alelos, cada uno proveniente de uno de los progenitores. En el caso de patologías monogénicas, solo un par de alelos pueden estar implicados en el control de la aparición de la enfermedad, de manera que solo puede haber tres combinaciones o genotipos: dos alelos normales, un alelo normal y otro enfermo, y los dos alelos enfermos. En el caso de las patologías genéticas recesivas, para que la enfermedad se desarrolle es necesaria la presencia de los dos alelos enfermos, por lo que los animales clínicamente nor-



males pueden ser portadores de un alelo enfermo “oculto” o tener dos copias normales del gen. Debido a que muchas patologías genéticas son consecuencia de alelos recesivos, es decir, es necesario que el animal herede un gen defectuoso de cada uno de los progenitores para desarrollar la enfermedad, el cruce de animales emparentados incrementa su incidencia; ya que cuando los progenitores están emparentados la probabilidad de que ambos sean portadores de una copia del mismo gen deletéreo es función del grado de parentesco. A esto se suma la baja diversidad genética de ciertas partes del genoma en la mayoría de razas caninas, lo que complica la eliminación de cualquier problema o enfermedad causada por alteraciones genéticas en esas regiones del genoma sin cruzar con los miembros de otra raza, lo cual está actualmente prohibido por las asociaciones de criadores.

Aunque la concienciación por parte de los criadores de la necesidad de evitar el cruce entre parientes cercanos ha aumentado, a menudo no se remontan en el

pedigrí el número de generaciones suficiente para comprobar la ausencia de un ancestro común, y todavía algunos criadores realizan cruces claramente endogámicos para fijar determinadas características recogidas en los estándares de la raza [ver capítulo 6 de esta monografía sobre selección y cruzamiento en la mejora genética de las razas caninas].

La influencia de esas prácticas en la reducción de la diversidad genética se refleja en los estudios sobre censos efectivos<sup>1</sup> en numerosas razas en diferentes países, mostrando en la mayoría de ellas un censo inferior a 100 individuos, por ejemplo, en las razas bóxer, bulldog inglés, chow chow, rough collie, golden retriever, greyhound, pastor alemán, springer spaniel inglés, akita inu del Reino Unido, y ello a pesar de que sus censos reales estaban entre 1.060 y 706.566 individuos. Esta situación es particularmente pronunciada en el bóxer, donde a un censo real de casi 45.000 individuos le corresponde un censo efectivo de solo 45. Se ha constatado también la gran pérdida de combinaciones genéticas ancestrales producida durante 6 o 7 generaciones (de 1970 a 2006) en numerosas razas, siendo mucho mayor incluso que la pérdida de variación en genes individuales. Esta alarmante pérdida de variabilidad genética es considerablemente mayor que el objetivo fijado para los programas de cría en cautividad de los zoos.

La base de datos de la red *Online Mendelian Inheritance in Animals* (OMIA) recoge una lista de más de 640 caracteres hereditarios (la mayoría de ellos desórdenes y enfermedades) en el perro doméstico, de los cuales en más de 180 la mutación causal es conocida. Es probable que la incidencia de muchos de esos desórdenes se incremente a medida que sigue extendiéndose la endogamia. Se estima que, de media, en cada raza se ha declarado la prevalencia elevada de entre 4 y 8 desórdenes, aunque algunos autores apuntan a cifras más elevadas. El labrador retriever se encuentra en cabeza con una elevada incidencia de 88 desórdenes diferentes. Sin embargo, en otras razas con censos más reducidos probablemente las cifras hayan sido subestimadas, ya que hay una correlación significativa entre el conocimiento de los desórdenes genéticos y el nivel de vigilancia veterinaria. Hay que tener en cuenta también que la presencia de una enfermedad en una raza no dice mucho acerca de su prevalencia o severidad. Por ejemplo, se han identificado 49 enfermedades en el bulldog inglés y 88 en el labrador retriever, sin embargo, la vida media del labrador es de 13 años mientras que la del bulldog es de 7, y la factura anual del veterinario para el labrador retriever es menos de la mitad que para el bulldog.

Todas estas prácticas han conducido a una elevada incidencia de ciertas enfermedades dentro de razas concretas, agravada por la falta de regulación o legislación específica. Los perros cruzados, tanto entre razas puras como entre animales

<sup>1</sup> El censo efectivo (N) de una población es una cifra teórica que representa el censo de reproductores de la población tal que si se cruzan de forma equilibrada darían lugar a la endogamia actual observada en dicha población. El interés de este concepto es consecuencia de su relación con el incremento por generación en endogamia ( $\Delta F$ ) tal y como se puede observar en la ecuación siguiente:  $N = \frac{1}{2\Delta F}$ .

sin raza, generalmente tienen una esperanza de vida mayor que los perros con pedigrí. Tampoco nos podemos olvidar de que, de igual forma que ocurre con las enfermedades, el tipo de elecciones de los criadores primordialmente dirigidas a la apariencia física ha hecho que se preste poca atención al temperamento o la capacidad de adaptarse al entorno doméstico, lo que puede ser la causa, al menos en parte, de los problemas de comportamiento que con frecuencia se encuentran hoy en los perros.

El mejor sistema de control de estas patologías hereditarias es la realización de análisis de ADN que permiten identificar el genotipo de los animales. Sin embargo, para muchas patologías hereditarias todavía no están disponibles. Las pruebas diagnósticas basadas en ADN tienen muchas ventajas, incluyendo: la habilidad de detectar la mutación antes de que se exprese como enfermedad, o en animales portadores; una baja tasa de error; especificidad absoluta; y la habilidad de realizar esas pruebas de forma sencilla simplemente a partir de una muestra de mucosa tomada mediante el uso de hisopos bucales. En los casos en los que la mutación es muy común pero recesiva, estos análisis pueden contribuir a mantener la diversidad genética de una raza mientras se va reduciendo gradualmente la frecuencia del alelo mutado. En muchas razas para las cuales se cuenta con análisis genéticos diagnósticos, los animales no sometidos a las pruebas se consideran menos valiosos para la cría que los que han demostrado estar libres de patologías. Por tanto, las pruebas de ADN ya se han ganado la reputación de reducir radicalmente o eliminar las frecuencias de mutaciones deletéreas en desórdenes conocidos. La limitación de los análisis de ADN es su disponibilidad, ya que la financiación de la investigación en genética canina es mucho menor que la disponible para humanos y los costes generados son muy difíciles de recuperar mediante la comercialización de los métodos diagnósticos, quizás a excepción de las razas más numerosas. Esa falta de recursos también ha hecho que las investigaciones se concentren en las patologías monogénicas en vez de en enfermedades genéticas complejas, que lamentablemente son las más comunes en la mayoría de las poblaciones de perros y que, entre otras complicaciones, suelen requerir la utilización de grandes tamaños muestrales de individuos afectados y grupos control.

Finalmente, no hay que olvidar que, aunque el desarrollo de análisis genéticos es de indudable valor, el tiempo que puede llevar su desarrollo y su elevado coste implican que no pueden ser vistos como la única respuesta a los problemas actuales de las razas. Hace falta que se tomen acciones inmediatas para disminuir su sufrimiento y mejorar su bienestar y, por tanto, es necesaria una revisión ética independiente y el desarrollo de planes de manejo detallados para cada raza que pueden incorporar los métodos genéticos de análisis como un componente de la estrategia global.

A continuación, se detallan las patologías hereditarias para las cuales está disponible su diagnóstico genético. Estos datos fueron recopilados en julio de 2014 con la intención de que fueran lo más exhaustivos posible. Sin embargo, los constantes avances en este campo hacen que seguramente en el momento de la publica-

ción de esta monografía ya hayan aparecido nuevas patologías o nuevos análisis genéticos. El diagnóstico genético para la mayoría de estas enfermedades está actualmente disponible en el Servicio de Genética de la Facultad de Veterinaria de Madrid ([genetica@ucm.es](mailto:genetica@ucm.es)), directamente o a través de convenios con otros laboratorios ([www.ucm.es/genetvet](http://www.ucm.es/genetvet)).

## ENFERMEDADES NEUROLÓGICAS

Las enfermedades neurológicas hereditarias, tanto neurodegenerativas como neuromusculares, son trastornos crónicos e invalidantes de los que hasta hace unos años se conocía muy poco acerca de su patogenia. Sin embargo, la situación ha mejorado en los últimos veinte años y algunos de los genes mutados responsables de las enfermedades neurológicas se han localizado en el genoma canino y se han identificado las alteraciones genéticas causales. En la *Tabla I* se muestran los desórdenes para las que es posible su diagnóstico genético mediante una prueba de ADN, así como las razas a las que afectan.

**TABLA I. ENFERMEDADES NEUROLÓGICAS (NEURODEGENERATIVAS Y NEUROMUSCULARES) PARA LAS QUE EXISTE PRUEBA DE ADN DIAGNÓSTICA (JULIO 2014)**

Enfermedades neurológicas		
Enfermedad	Gen	Razas afectadas
Abiotrofia cerebelar (NCCD)	<i>SPTBN2</i>	Beagle
Aciduria L-2-hidroxiglutarica (L2HGA)	<i>L2HGDH</i>	Staffordshire bull terriers, yorkshire terrier
Ataxia cerebelosa progresiva temprana	<i>SEL1L</i>	Finnish hound
Ataxia espinocerebelar (SCA)	<i>CAPN1</i>	Parson russell terrier
	-	Jack russell terrier, russell terrier
Ataxia neonatal de bandera (BNAt)	<i>GRM1</i>	Coton de tulear
Caída episódica	<i>BCAN</i>	Cavalier king charles spaniel
Colapso por esfuerzo	<i>DNM1R</i>	Varias razas <sup>1</sup>
Degeneración cerebelar	-	Setter escocés, old english sheepdog
Encefalopatía neonatal con ataques (NEWS)	<i>ATF2</i>	Caniche
Epilepsia idiopática	<i>ADAM23</i>	Pastor belga

Epilepsia familiar juvenil benigna (BFJE)	<i>LGI2</i>	Lagotto romagnolo
Fucosidosis	<i>FUCA1</i>	English springer spaniel
GM1 - Gangliosidosis	-	Portuguese water dog
GM2 - Gangliosidosis	-	Japanese chin
Hiperplexia	<i>GlyT2</i>	Lobero irlandés
Leucodistrofia de células globoideas	<i>GALC</i> (exón)	Cairn terrier, west highland white terrier
	<i>GALC</i> (ins 78 bp)	Setter irlandés
Lipofuscinosis neuronal ceroid (LNC)	<i>ATP13A2</i>	Terrier tibetano
	<i>CLN5</i>	Border collie
	<i>CTSD</i>	Bulldog americano
	<i>TPP1</i>	Teckel
	<i>PPT1</i>	Teckel
	<i>ARSG</i>	American staffordshire terrier
	<i>CLN8</i>	Setter inglés
	<i>CLN6</i>	Pastor australiano
Meningoencefalitis necrotizante (NME)	<i>DLA</i>	Pug
Mielopatía degenerativa (DM)	<i>SOD1</i>	Varias razas <sup>2</sup>
Mielopatía necrotizante hereditaria (ENM)	-	Kooikerhondje
Narcolepsia	<i>HCRTR2</i>	Labrador retriever, teckel, doberman pinscher
Polineuropatía	<i>NDRG1</i> (exón 4)	Alaskan malamute
	<i>NDRG1</i> (exón 15)	Galgo inglés
Polineuropatía leonberger	<i>LPN1</i>	Leonberger

\*Labrador retriever, bouviers des Flandres, boykin spaniel, retriever de Chesapeake, cocker spaniel, retriever de pelo rizado, pointer alemán de pelo duro, Old English Sheepdog, corgi galés de Pembroke.

<sup>2</sup>Boxer, pastor alemán, golden retriever, esquimal americano, boyero de Berna, borzoi, cardigan Welsh corgi, retriever de Chesapeake, perro de montaña de los Pirineos, Kerry Blue Terrier, corgi galés de Pembroke, caniche, carlino, Rhodesian Ridgeback, Shetland Sheepdog, soft coated wheaten terrier, wire fox terrier.

## Lipofuscinosis neuronal ceroid (LNC)

La lipofuscinosis neuronal ceroid (LNC) engloba a un grupo de enfermedades neurodegenerativas progresivas que se caracterizan por la acumulación de gránulos lisosomales autofluorescentes en el sistema nervioso central y otros tejidos. Afecta tanto a seres humanos como a otros animales como vacas, ovejas o caballos. No hay un tratamiento efectivo para las LNCs y los pacientes sufren ataques, pérdida de visión y un declive motórico y cognitivo progresivo, que normalmente culmina en un estado vegetativo persistente y la muerte prematura. Los mecanismos causales exactos de esta neurodegeneración todavía no están claros, aunque se ha propuesto como causa la combinación de estrés oxidativo y autofagia, que desencadenan la muerte neuronal inducida por la disfunción lisosomal. Las LNCs se pueden clasificar teniendo en cuenta los genes defectivos asociados con la enfermedad. Es bastante difícil distinguir entre las formas individuales de LNC en las distintas razas que las padecen –ej. los síntomas de LNC descritos en border collies y causados por una mutación en el gen *CLN5* son muy similares a los diagnosticados en el setter inglés y producidos por una mutación en el gen *CLN8*, con un rango de síntomas y edad de aparición de la enfermedad similares.

Hasta la fecha, se han descrito distintas formas de LNC en al menos 18 razas caninas y 8 genes –*CLN5*, *CLN8*, *CLN10* (alias *CSTD*), *CLN2* (alias *TPP1*), *CLN1* (alias *PPT1*), *CLN6*, *ARSG* y *ATP13A2*– han sido implicados en 7 razas distintas –border collie, english setter, american bulldog, dachshund, american staffordshire terrier, pastor australiano y terrier tibetano–. Seis de estos genes son ortólogos<sup>2</sup> a los descritos en pacientes de LNCs humanos.

La primera mutación canina para LNC se encontró en el border collie mediante análisis de ligamiento y genómica comparativa (Melville et al. 2005). El estudio de ligamiento utilizando microsatélites situó el gen en el cromosoma canino 22. Esta región contenía el gen candidato *CLN5*, responsable de la variante *Finnish* de LNC infantil tardía en humana. La secuenciación de este gen reveló una mutación recesiva (cambio de glutamina por un codón<sup>3</sup> stop, Q206X) en el exón 4 de los perros afectados. La sustitución de una sola base –citosina (C) por timina (T) en la posición 619– causa la aparición de un codón de finalización temprano en la posición 206 de la proteína, resultando en un acortamiento en 144 aminoácidos de la proteína final. La frecuencia de portadores en una población general de border collie fue estimada en torno al 3,5%. Aunque los síntomas de la enfermedad en esta raza pueden ser observados por los dueños desde los 15 meses de edad, la edad de aparición y su severidad pueden variar ampliamente entre individuos. A medida que la degeneración neuronal aumenta, todos los perros afectados desarrollarán anomalías psicológicas y ataxia. El curso clínico in-

<sup>2</sup> Se refiere a genes equivalentes en otras especies.

<sup>3</sup> Codón o triplete se refiere a los tres nucleótidos de la cadena de ARN que van a dar lugar a un determinado aminoácido.

cluye un incrementado de la agitación e hiperactividad, así como alucinaciones, agresión y ataques epilépticos. La mayoría de los animales pierden la capacidad muscular para coordinar la realización de actividades cotidianas. En algunos casos se presenta también ceguera completa. Debido a la naturaleza debilitante de esta enfermedad, la mayor parte de los perros afectados rara vez sobreviven más allá de los 28 meses de edad.

La segunda mutación autosómica recesiva de LNC que afecta a la raza setter inglés (Katz et al. 2005) se localizó en el gen *CLN8* situado en el cromosoma 37. La secuenciación de la región codificante del gen reveló una mutación recesiva (cambio de leucina por prolina, L164P) causada por la transición de una T a una C en el nucleótido 491. Esta mutación conduce a una acumulación de cuerpos lisosomales de almacenamiento que contienen grandes cantidades de la subunidad c de la ATP sintetasa. Los setter inglés afectados por LNC parecen normales al nacimiento, antes de mostrar los síntomas de LNC en torno al año o los dos años de edad. Los síntomas incluyen ataques, decline motor y cognitivo progresivo, y dificultad visual. Por lo general, los perros afectados mueren en dos años por ataques intratables.

La tercera mutación de LNC descrita se encontró en el bulldog americano, afectando al gen catepsina D (CTSD) (Awano et al. 2006). Se trataba de una mutación recesiva (cambio de metionina por isoleucina, M199I) en el gen *CSTD* en los perros afectados producida por una transición de guanina (G) a adenina (A) en el nucleótido 597, que resulta en una pérdida significativa (>60%) de la actividad enzimática *CSTD*-específica en el cerebro de los perros afectados en comparación con los perros control. La frecuencia de esta mutación específica del bulldog americano es alta (28%). Produce la acumulación de material de almacenamiento citoplasmático autofluorescente en el interior de las neuronas del cerebro y de las células de ganglio retinal de los perros afectados. Sin embargo, es sorprendente que la actividad residual de la catepsina D no sea suficiente para proteger a los bulldogs americanos de desarrollar una LNC letal, por lo que es posible que existan otros defectos que previenen que los perros afectados se beneficien de la actividad residual de la catepsina D en sus cerebros. La aparición de esta LNC se produce normalmente antes de los 2 años de edad y los perros afectados muestran hipotermia y ataxia seguida de un deterioro psicomotor progresivo y de la muerte antes de los 7 años de edad.

En el caso de la raza teckel o dachshund se ha descrito la existencia de dos mutaciones en genes distintos como causantes de LNC. Una de ellas se encuentra en el gen tripeptidil peptidasa I (*TPP1*), ortólogo del gen *CLN2* humano (Awano et al. 2006b). El perro afectado mostraba un curso de progresión rápida de la enfermedad que incluía desorientación, ataxia, déficit visual, ataques mioclónicos generalizados y la muerte a los 12 meses de edad. La secuenciación del gen *TPP1* reveló la presencia de una mutación recesiva en el exón 4, la delección del nucleótido 325, que daba lugar a un cambio en el marco de lectura y a un codón stop prematuro, que explica la pérdida de actividad enzimática del perro afectado. La otra mutación descrita en esta raza se encuentra en el gen palmitoil-proteína tioesterasa 1 (*PPT1*), en este caso afectando a un Teckel miniatura de 9 meses de edad con

síntomas de LNC que incluían desorientación, ataxia, debilidad, dificultad visual y cambios de comportamiento (Sanders et al. 2010). La secuenciación del gen *PPT1* reveló una mutación recesiva en el exón 8, una inserción de un nucleótido en la posición 736-737, que explicaba la pérdida de actividad de la enzima PPT1 en el perro afectado (Figura 2).

En el American Staffordshire Terrier se asoció el desarrollo de una forma de LNC de aparición tardía con el gen de la arilsulfatasa G (*ARSG*) localizado en el cromosoma 9 (Abitbol et al. 2010). Una mutación en el exón 2 de este gen causa la sustitución de arginina por histidina (R99H), lo que lleva a una disminución del 75% en la actividad sulfatasa de la enzima. Los perros afectados por esta LNC muestran incapacidad motora, con ataxia estática y dinámica, y atrofia cerebelar significativa (Figura 3). Este síntoma es detectado de forma temprana por los dueños. Inicialmente implica la pérdida de equilibrio y tropiezos al torcer esquinas, subir o bajar cuestras o escaleras. No se han detectado problemas visuales en ninguno de los perros afectados.

El terrier tibetano muestra una forma letal de LNC de aparición tardía que manifiesta sus primeros síntomas en torno a los 5-7 años de edad. El estudio genómico llevado a cabo por Whonke y Distl (2011) localizó el gen causante de esta LNC en el cromosoma canino 2, una delección de una G en la posición 1620 del exón 16 del gen *ATP12A2* da lugar a la pérdida del exón 16 debido a la disrupción de un motivo potenciador de splicing<sup>4</sup> exónico, con lo que la proteína resultante tiene 69 aminoácidos menos. La enfermedad en esta raza empieza normalmente con ceguera crepuscular y desorientación. Los perros afectados a menudo parecen nerviosos

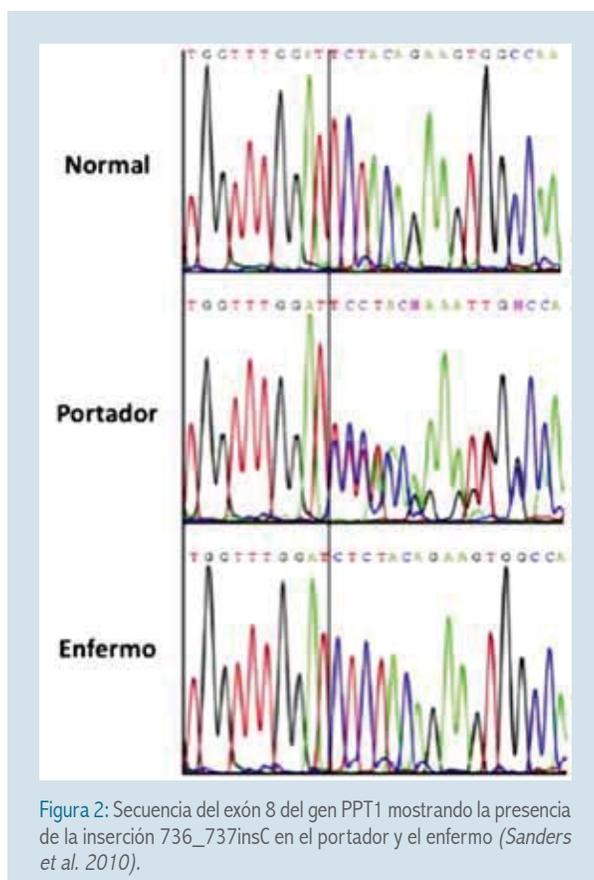
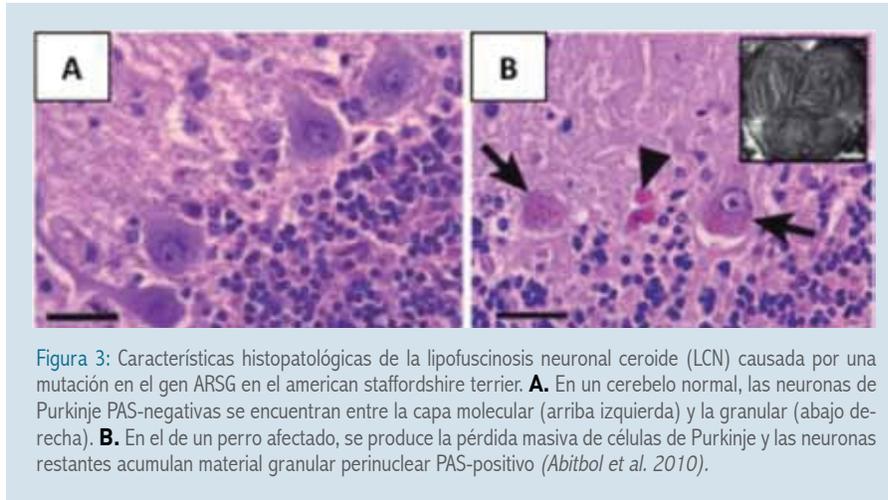


Figura 2: Secuencia del exón 8 del gen *PPT1* mostrando la presencia de la inserción 736\_737insC en el portador y el enfermo (Sanders et al. 2010).

<sup>4</sup> Se refiere a la eliminación de los intrones y exones mediante el reconocimiento de secuencias que flanquean el final de un intrón y el principio del exón en secuencia de ARN mensajero.



o ansiosos y la falta de coordinación motora se vuelve más severa a medida que progresa la enfermedad. Suelen tener problemas para saltar hacia arriba o subir escaleras. En las etapas finales de la enfermedad pueden aparecer ataques de media intensidad o severos. No hay ningún tipo de tratamiento y, debido a su aparición tardía, muchos de los perros susceptibles a LNC ya han sido utilizados en cruzamientos por lo que su dispersión entre la población es posible si no se detecta mediante un análisis genético.

Finalmente, en un pastor australiano que mostraba un desorden neurológico progresivo se identificó una mutación en el exón 7 del gen *CLN6* que causaba la transición de T a C en el nucleótido 826 (Katz et al. 2011). Este cambio nucleotídico da lugar a la sustitución de triptófano por arginina en la proteína resultante que puede ser la causa de la enfermedad en esta raza. El córtex cerebral, el cerebelo y la retina muestran una acumulación masiva de inclusiones autofluorescentes características de LNC.

Esta inusualmente abundante información genética acerca de la etiología de la LNC en la especie canina no debería ser desaprovechada. El elevado número de razas a las que afecta, la discapacidad progresiva y el sufrimiento que provoca en los individuos enfermos, junto con la ausencia de tratamiento, deberían situar la reducción de la incidencia de esta enfermedad como un objetivo clave en las estrategias de cría de las diferentes asociaciones de razas. La determinación del genotipo para la mutación causante de los distintos tipos de LNC se realiza mediante un análisis diagnóstico sencillo y de bajo coste que permite la progresiva eliminación de estas patologías en las razas afectadas mediante cruces selectivos. La pérdida de variación o características particulares deseables que podrían constituir un problema durante los estadios iniciales de cualquier programa de cría selectiva debido al limitado *pool* genético disponible, se puede minimizar si los criadores comienzan el

proceso de selección realizando apareamientos entre animales asintomáticos heterocigotos y animales no afectados, y posteriormente seleccionan la progenie no portadora del alelo de la enfermedad para futuros cruces.

## ENFERMEDADES OCULARES

Las patologías oculares hereditarias que se presentan en el perro pueden provocar desde alteraciones visuales a la ceguera. Su diagnóstico genético es importante ya que no siempre son detectables a simple vista por el criador o el propietario, y algunas son de aparición tardía, con lo que el animal ya se ha reproducido y ha transmitido el defecto genético a su descendencia. En la *Tabla II* se recopilan las enfermedades oculares para las que existe una prueba genética en la actualidad.

**TABLA II. ENFERMEDADES OCULARES PARA LAS QUE EXISTE UN TEST DE ADN DIAGNÓSTICO (JULIO 2014)**

Enfermedades oculares		
Enfermedad	Gen	Razas afectadas
Atrofia retinal progresiva (PRA) / Degeneración progresiva de conos y bastones	<i>SAG</i>	Basenji
	<i>RHO</i>	Bullmastiff, mastiff
	<i>CNGB1</i>	Papillon, phalène
	<i>PRCD</i>	Varias razas <sup>1</sup>
	<i>RPGR</i> (X-Ligado)	Samoyedo, husky siberiano
	<i>SLC4A3</i>	Golden retriever
	PRA-GR1	Golden retriever
	PRA-GR2	Golden retriever
	<i>CCDC66</i>	Schapendoes
	-	Schnauzer miniatura
PRA / Degeneración de conos	<i>CNGB3</i> (del)	Alaskan malamute, husky siberiano, pastor australiano, pastor australiano miniatura
	<i>CNGB3</i> (D262N)	German shorthaired pointer, pointer
PRA / Displasia de conos-bastones 1 (rcd1)	<i>PDE6B</i> (G807A)	Setter inglés
	<i>PDE6B</i> (8bp del)	Sloughi
	<i>RPGRIP1</i>	Teckel miniatura de pelo largo

PRA / Displasia de conos-bastones 2 (rcd2)	<i>RD3</i>	Rough y smooth collie
PRA / Displasia de conos-bastones 3 (rcd3)	<i>PDE6A</i>	Cardigan welsh corgi
	<i>ADAM9</i>	Glen of imaal terrier
PRA / Displasia de conos-bastones 4 (rcd4)	<i>C2orf71</i>	Boyero australiano, gordon setter, corgi, setter irlandés, sloughi, mastín, pointer, husky, samoyedo
Anomalía ocular del collie (CEA)	<i>NHEJ1</i>	Pastor australiano, collie barbudo, border collie, boykin spaniel, collie, lancashire heeler, retriever de nueva escocia, shetland sheepdog retriever
Catarata hereditaria	<i>HSF4</i>	Pastor australiano, boston terrier, bulldog francés, staffordshire bull terriers
Ceguera nocturna (CSNB)	<i>REP65</i>	Pastor de brie
Displasia de retina / displasia oculoesquelética	<i>Col9A3</i>	Labrador retriever
	<i>Col9A2</i>	Samoyedo
Glaucoma primario de ángulo abierto (POAG)	<i>ADAMTS10</i>	Beagle
Luxación primaria de lentes (PLL)	<i>ADAMTS17</i>	Terrier, esquimal americano, boyero australiano, crestado chino, lancashire heeler, volpino italiano
Retinopatía multifocal canina (CMR1)	<i>VMD2 o BEST1 (C73T)</i>	Perro de montaña de los pirineos, mastín inglés, bullmastiffs, cane corso, dogo de burdeos, bulldog americano, perro de presa canario, pastor australiano
Retinopatía multifocal canina (CMR2)	<i>VMD2 o BEST1 (G482A)</i>	Coton de tuléar
Retinopatía multifocal canina (CMR3)	<i>VMD2 o BEST1 (C1388del, G1466T)</i>	Lapponian herder
Síndrome de ojo seco y pelo rizado (CKCSID)	<i>FAM83H</i>	Cavalier king charles spaniel

<sup>1</sup>Esquimal americano, boyero australiano, pastor australiano, chesapeake bay retriever, crestado chino, cocker spaniel, english cocker spaniel, entlebucher mountain dog, finnish lapphund, schnauzer gigante, golden retriever, kuvasz, labrador retriever, norwegian elkhound, nova scotia duck tolling retriever, caniche, perro de aguas portugués, silky terrier, perro de aguas español, yorkshire terrier

## Atrofia Retinal Progresiva (PRA)

La atrofia retinal progresiva (PRA) incluye un grupo de enfermedades genéticas oculares degenerativas que producen una degeneración bilateral de la retina, causando una pérdida progresiva de visión que finalmente desemboca en ceguera. Es similar a la retinitis pigmentosa en humanos y no existe ningún tratamiento. Esta patología afecta a más de 100 razas de perro y es genéticamente heterogénea entre razas. Alrededor de 15 mutaciones han sido identificadas hasta ahora como asociadas con PRA en unas 49 razas distintas. A excepción del PRA ligado al cromosoma X que afecta al samoyedo y al husky siberiano y del que se presenta en las razas bullmastiff y mastiff que sigue un modelo de herencia dominante, esta enfermedad se hereda de forma autosómica recesiva.

Las células de la retina reciben el estímulo luminoso del exterior y transmiten la información al cerebro donde es interpretada para dar lugar a las imágenes. La retina está compuesta por varias capas (*Figura 4*). En la retina neurosensorial se encuentran los fotorreceptores, conos y bastones. Debajo está el epitelio pigmentario de la retina. El área que se encuentra en el centro de la retina, la mácula, es la encargada de la visión central. La fovea es la zona que rodea a la mácula y constituye la parte de mayor sensibilidad visual, dando lugar a la visión periférica. En los perros, la retina no madura hasta las 6 o 7 semanas de edad.

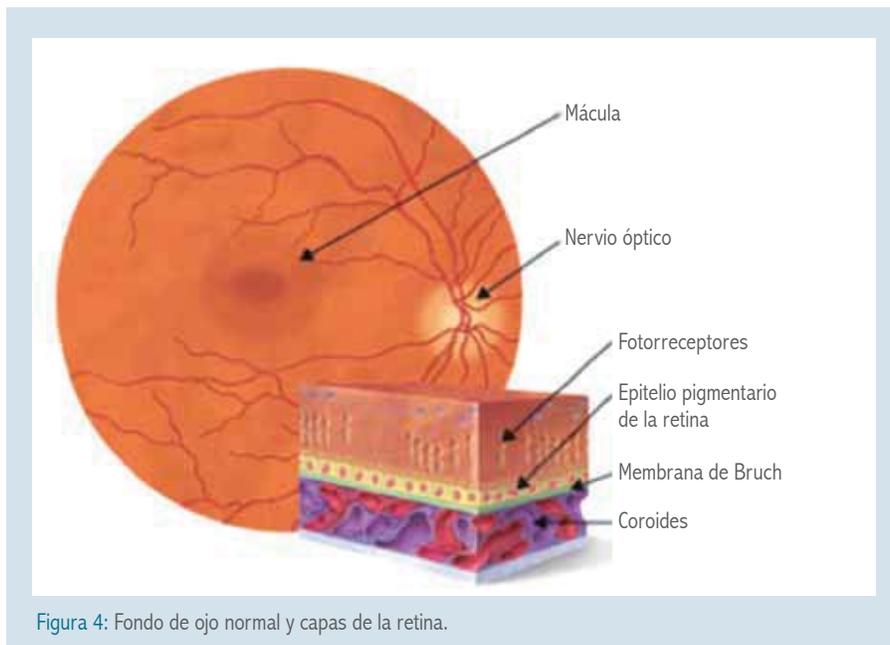


Figura 4: Fondo de ojo normal y capas de la retina.

El término atrofia retinal progresiva engloba varios tipos de degeneración hereditaria de la retina. La subclasificación del PRA se basa en la edad a la cual el perro muestra signos de enfermedad y el tipo de célula retinal que se ve afectado:

- **PRA generalizada:** estas enfermedades afectan primariamente a las células fotorreceptoras. Afectan a ambos ojos de forma similar y los perros se acabarán volviendo completamente ciegos.
  - Displasias de fotorreceptores tempranas: las células fotorreceptoras se desarrollan de forma anormal en las primeras semanas tras el nacimiento, pero después degeneran junto con las capas más internas de la retina. Los primeros síntomas suelen ser fallos en la visión nocturna en torno a las 6 semanas de edad, que progresan hacia la pérdida total de visión en torno al año o dos años de edad. Los collies pueden mantener algo de visión hasta los 2 o 3 años. En este grupo se incluyen las displasias de conos y bastones de tipo 1 (rcd1) que afecta a las razas setter inglés, sloughi y teckel miniatura de pelo largo, de tipo 2 (rcd2) que afecta a los collies, tipo 3 (rcd3) que afecta al cardigan welsh corgi y al glen of imaal terrier, y las de tipo 4 (rcd4) que afecta a numerosas razas (Tabla 2). En este grupo también se incluye la degeneración de conos, inicialmente observada en el alaskan malamute, en la que la degeneración de fotorreceptores en los cachorros provoca el desarrollo de ceguera diurna y fotofobia entre las 8 y 12 semanas después del nacimiento. A diferencia de otras PRA, los bastones permanecerán funcionales durante toda la vida del animal y por tanto no se verá afectada la visión nocturna.
  - Displasias de fotorreceptores tardías: constituyen las degeneraciones progresivas de conos y bastones que afectan a un mayor número de razas. En este caso, la retina madura y funciona de forma aparentemente normal durante un periodo de tiempo variable antes de degenerar. Los perros normalmente no presentan síntomas clínicos hasta el año de edad o más adelante (generalmente entre los 2 y 5 años), aunque sí es posible observar anomalías en el ojo y en un electroretinograma mucho antes de que los dueños noten los signos de incapacidad visual. Lo primero que pierden es la visión periférica y la progresión hacia ceguera total se produce en un periodo de en torno a un año.
- **PRA central:** también llamada distrofia del epitelio pigmentario de la retina ya que la anomalía se encuentra en dicho epitelio. Con el tiempo, las células fotorreceptoras también acabarán degenerando. La pérdida de visión es mucho más lenta que en el caso de las PRA generalizadas, sin la ceguera nocturna inicial, y no todos los perros se vuelven completamente ciegos. Generalmente afecta a perros de edad avanzada y se ha asociado con deficiencias de vitamina E. Este trastorno es menos común que el PRA central y ocurre fundamentalmente en perros de Reino Unido de las razas border collie, cardigan welsh corgi, english cocker spaniel, english springer spaniel, golden retriever, labrador retriever, rough y smooth collie, shetland sheepdog. También se ha descrito su presencia en el pastor de brie, en el que parece que está asociada con la reducción de

la actividad antioxidante a nivel del epitelio pigmentario de la retina, probable-mente debido a una mutación implicada en la transferencia de tocoferol en el hígado. Sin embargo, todavía no se ha localizado la mutación causal de PRA central en ninguna de estas razas.

A esta descripción general de la progresión de la enfermedad escapa la patología que se presenta en las razas bullmastiff y mastiff. En este caso, los fenotipos de los individuos portadores de la mutación en el gen de la rodopsina (*RHO*) incluyen la degeneración estructural no uniforme de la retina acompañada de la recuperación anormal de la función del fotorreceptor cuando se expone a la luz intensa.

### Diagnóstico de PRA

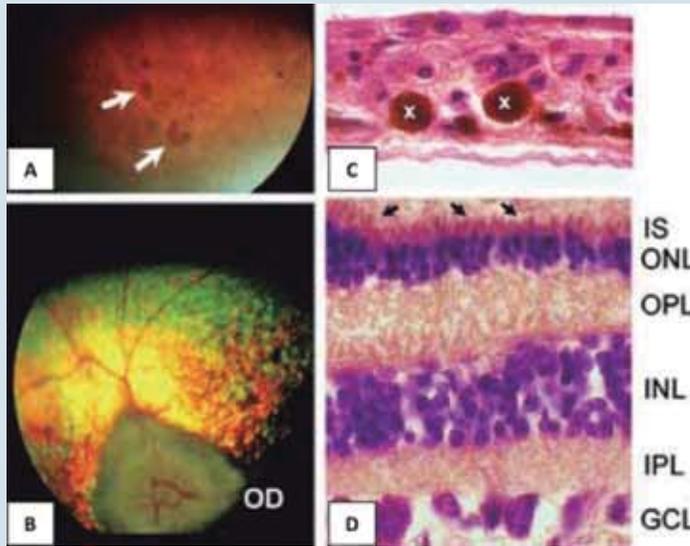
No se aprecian cambios externos en los ojos. El síntoma más importante del desarrollo de PRA es que el perro empieza a tener dificultades para desenvolverse cuando se apagan las luces en casa o cuando es de noche en el exterior. Muchos perros son capaces de compensar esa pérdida gradual de visión, de manera que los dueños no la notan hasta que la enfermedad está significativamente avanzada.

En el caso de PRA generalizada, el veterinario puede realizar:

- Examen oftalmoscópico: se puede apreciar un adelgazamiento de la retina mediante la hiperreflexia del *tapetum*, la atenuación de los vasos retinales y la contracción y palidez del disco óptico. Las cataratas y el desprendimiento de retina se pueden producir en estadios avanzados de la enfermedad (*Figura 5*).
- Electroretinograma: permite detectar la enfermedad mucho antes de la aparición de los primeros síntomas clínicos.
- Análisis de ADN: existen diversas pruebas de ADN para las distintas razas y mutaciones. Muchas de ellas están disponibles en el Servicio de Genética de la Facultad de Veterinaria de Madrid ([www.ucm.es/genetvet](http://www.ucm.es/genetvet) o correo electrónico [genetica@ucm.es](mailto:genetica@ucm.es)), directamente o a través de convenios con otros laboratorios (Optigen, USA).

En el caso de PRA central no hay disponibles pruebas genéticas y el electroretinograma no parece útil en su diagnóstico temprano porque las células fotorreceptoras solo se encuentran afectadas al final del curso de la enfermedad. Por tanto, el diagnóstico se basará en el examen oftalmoscópico. Inicialmente, se encontrarán múltiples puntos centrales en el *tapetum* cuyo color puede variar desde claro hasta marrón oscuro, así como su tamaño, forma y densidad. Estas manchas se producen por la acumulación de lipopigmentos en la capa de fotorreceptores. También se puede percibir hiperreflexia y atenuación de los vasos retinales a medida que la enfermedad progresa.

En conclusión, al igual que sucede con la lipofuscinosis neuronal ceroides, esta enfermedad también afecta a un gran número de razas, no existe tratamiento y hay disponible una gran cantidad de información genética que permite la realización



**Figura 4:** Perro afectado por atrofia retinal progresiva general. **A.** Imagen del fondo de ojo en la que se puede apreciar la distribución irregular del pigmento con algunas manchas grandes (flechas). **B.** Fundoscopia incluyendo el disco óptico que muestra la hiper-reflectividad y el adelgazamiento de los vasos retinales. **C.** Sección de la retina periférica teñida con Hematoxilina-Eosina (HE) mostrando la desaparición de capas y los depósitos de pigmentos (x). **D.** Sección de la retina central teñida con HE en la que se aprecia la estrecha capa nuclear exterior (ONL) y el acortamiento de los segmentos interiores de la capa de fotorreceptores (IS) (Dekomien et al. 2010).

de análisis de ADN de una forma sencilla, sin necesidad de estresar al animal para extraerle sangre ya que es suficiente tomar una muestra de la mucosa bucal con un hisopo y el coste es reducido. Por tanto, la eliminación progresiva de los individuos portadores y enfermos mediante cruces selectivos debería integrarse en los programas de cría como un objetivo fundamental para garantizar el bienestar de estos animales.

## ENFERMEDADES METABÓLICAS

Las enfermedades metabólicas o errores hereditarios del metabolismo, son un grupo de enfermedades genéticas producidas por el bloqueo de alguna vía metabólica en el organismo. El efecto de estas alteraciones varía según la vía afectada y la severidad del bloqueo. Tanto los efectos tóxicos de las sustancias acumuladas, como la deficiencia de los productos, son los principales responsables de las manifestaciones clínicas. La mayoría de ellas se heredan de forma autosómica recesiva. En la *Tabla III* se recogen las enfermedades metabólicas en las cuales se ha localizado la mutación causal en el perro y se puede determinar el estatus de sano, portador o enfermo mediante un test de ADN.

**TABLA III. ENFERMEDADES METABÓLICAS PARA LAS QUE EXISTE UN TEST DE ADN DIAGNÓSTICO (JULIO 2014)**

<b>Enfermedades metabólicas</b>		
<b>Enfermedad</b>	<b>Gen</b>	<b>Razas afectadas</b>
Deficiencia de piruvato deshidrogenasa fosfatasa (PDP)	<i>PDP1</i>	Clumber spaniel, sussex spaniel
Degeneración múltiple sistémica canina (CMSD)	-	Crestado chino, kerry blue terrier
Enfermedad de almacenamiento de glucógeno de tipo Ia (GSDIa)	<i>G-6-Pase</i>	Beagle, maltés
Enfermedad de almacenamiento de glucógeno de tipo II (GSDII) / Enfermedad de Pompe	<i>GAA</i>	Lapphunds finlandés, lapphunds sueco, lapphunds herder
Enfermedad de almacenamiento de glucógeno de tipo IIIa (GSDIIIa)	<i>AGL</i>	Retriever de pelo rizado
Enfermedad de almacenamiento de glucógeno de tipo VII (DSDVII) / Déficit de fosfofructocinasa muscular	<i>PFKM (W743X)</i>	Cocker spaniel, english cocker spaniel, english springer spaniel, whippets, cruces
	<i>PFKM (R184W)</i>	Wachtelhunds
Hipocatalasia / Acatalasemia	<i>CAT</i>	Beagle
Malabsorción de Cobalamina (Vit B12)	<i>CUBN</i>	Border collie
Mucopolisacaridosis tipo I (MPS I)	<i>IDUA</i>	Plott hound
Mucopolisacaridosis tipo IIIA (MPS IIIA)	<i>SGSH</i>	Teckel
	<i>SGSH (insC)</i>	Pastor de Nueva Zelanda
Mucopolisacaridosis tipo IIIB (MPS IIIB)	<i>NAGLU</i>	Schipperke
Mucopolisacaridosis tipo VI (MPS VI)	<i>ARSB (del)</i>	Caniche
	<i>ARSB</i>	Pinscher miniatura
Mucopolisacaridosis tipo VII (MPS VII)	<i>GUSB</i>	Pastor alemán
	<i>GUSB (C866T)</i>	Terrier brasileño
Toxicosis por cobre	<i>COMMD1</i>	Bedlington terrier

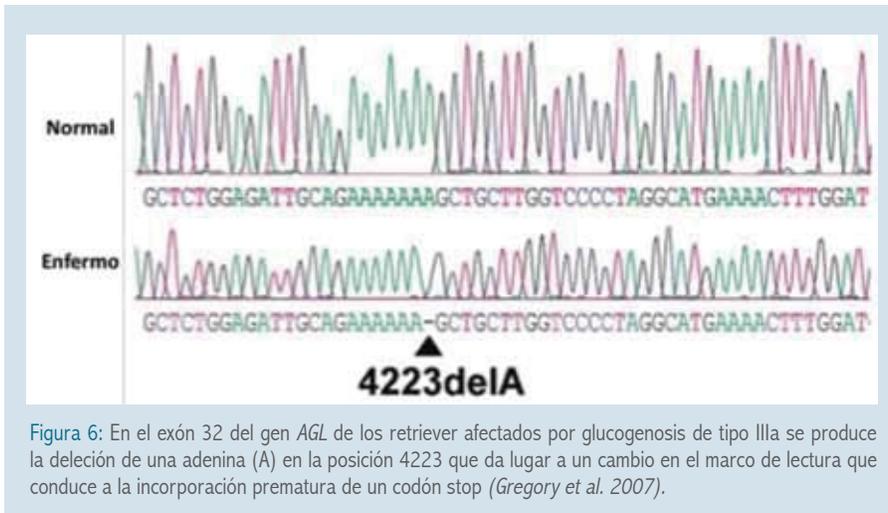
## Enfermedades de Almacenamiento de Glucógeno (GSD)

Las enfermedades de almacenamiento de glucógeno (GSD), también conocidas como glucogenosis, son un grupo de desórdenes hereditarios autosómicos recesivos que se caracterizan por una actividad deficiente de las enzimas responsables de la metabolización del glucógeno, conduciendo a su acumulación en los tejidos y a trastornos de su homeostasis. Es un trastorno hereditario en el que se han definido distintos tipos cuya característica común es que conducen a la acumulación de glucógeno. El glucógeno es un carbohidrato de reserva energética formado por cadenas ramificadas de glucosa que ayuda al almacenamiento a corto plazo de energía en las células mediante su conversión a glucosa a medida que el cuerpo la necesita para las necesidades metabólicas. Su acumulación anormal en los tejidos puede dar lugar a hipertrofia y disfunción de distintos órganos, incluyendo el hígado, el corazón y los riñones. Los signos clínicos de la enfermedad varían dependiendo de la severidad del defecto enzimático, de la localización celular de la enzima y de los tejidos en los que la enzima se expresa normalmente.

En perros, se han descrito hasta la fecha cuatro tipos de glucogenosis que afectan a distintas razas. La primera que se describió fue la de tipo VII (GSDVII), producida por un déficit de la enzima fosfofructocinasa muscular (PFKM), clave en la glicólisis anaerobia. Aunque en otras especies —como humanos o caballos— provoca fundamentalmente una miocardiopatía metabólica por esfuerzo, en el caso de los perros afectados la manifestación clínica predominante es la crisis hemolítica. Se han descrito dos mutaciones distintas asociadas con la deficiencia de PFKM en perros, la sustitución de una G por una A en el nucleótido 2228 del gen *PFKM*, que produce el cambio de triptófano por un codón stop (W743X) eliminando los 40 últimos aminoácidos de la proteína final (Smith et al. 1996), y la sustitución de una C por una T en la posición 550 del mismo gen que resulta en el cambio de arginina por triptófano (R184W) (Gultekin et al. 2012). En ambos casos, la proteína resultante no es funcional y conduce a una disminución en la actividad de la enzima PFKM eritrocitaria de entre el 78-94% y del 96-99% en el caso de la forma muscular.

El siguiente tipo de glucogenosis que se describió fue el tipo Ia (GSDIa, también conocido como enfermedad de von Gierke), que afecta a las razas maltés y beagle. Los principales síntomas que muestran los animales afectados por este tipo de glucogenosis son la hepatomegalia masiva y la falta de desarrollo, ambos relacionados con el déficit de actividad de la enzima glucosa-6-fosfato (G-6-Pase) en hígado y riñones. Kishnani et al. (1997) localizaron una mutación en el gen *G6PD*, una transversión de G a C en el nucleótido 450 que resultaba en la sustitución de metionina por isoleucina (M121I), cuya consecuencia era la pérdida de un sitio de restricción y que se asociaba con la incidencia de GSDIa.

En 2007, Gregory et al. localizaron la mutación causal de la glucogenosis de tipo IIIa (GSDIIIa) que afecta al retriever de pelo rizado. Esta enfermedad está causada por una mutación en la enzima desramificadora de glucógeno (AGL), la delección de una A en el exón 32 del gen *AGL* (Figura 6), que produce un cambio en el marco



de lectura que conduce a la incorporación prematura de un codón stop, eliminándose los 126 aminoácidos finales de la proteína. Los perros afectados por esta enfermedad muestran episodios de intolerancia al ejercicio, colapso y letargia.

La última enfermedad de almacenamiento de glucógeno para la que se ha determinado la mutación causal en perros es el tipo II (GSDII), también denominada enfermedad de Pompe. Esta enfermedad, a menudo mortal, está causada por la deficiencia de  $\alpha$ -glucosidasa ácida, la enzima codificada por el gen *GAA* necesaria para romper el glucógeno en los lisosomas. Se ha descrito en perros de razas de lapphunds. Los animales afectados son homocigotos para la mutación que causa la sustitución de una G por una A en la posición 2237 del gen *GAA* (Seppälä et al. 2013). Esta misma mutación también se ha asociado en humanos con la enfermedad infantil de Pompe en combinación con una segunda mutación deletérea. Los síntomas de la enfermedad en perros son iguales a los descritos en humana, dando lugar a la destrucción de tejidos por la acumulación de glucógeno que se refleja en un espectro de fenotipos clínicos que van desde la forma infantil letal a la lenta progresión de la forma tardía. Los síntomas clínicos incluyen vómitos inducidos por dilatación esofágica, debilidad muscular progresiva, pérdida de condición física, enfermedad cardíaca clínica e hipertrofia miocárdica, que normalmente requieren eutanasia en torno al año y medio de edad. Los estudios bioquímicos revelan la deficiencia severa de actividad de la  $\alpha$ -glucosidasa ácida en el corazón, el músculo esquelético y el hígado. Los hallazgos patológicos revelan la acumulación de vacuolas con glucógeno en córtex cerebral, hígado, y músculo liso miocárdial y esofágico.

Los procedimientos diagnósticos pueden variar dependiendo de los síntomas y el tipo de glucogenosis del que se sospecha. La obtención de un diagnóstico definitivo se puede conseguir mediante el análisis de enzimas en el tejido y la de-

terminación de los niveles de glucógeno; sin embargo, la realización de pruebas genéticas en los tipos de GSD y razas para las que está disponible, además de conferir un diagnóstico inequívoco, permiten también detectar el estado de portador, pudiendo evitar que esos animales se reproduzcan y transmitan la mutación a su descendencia.

En cuanto al tratamiento, depende del tipo de glucogenosis diagnosticada y de la gravedad de los síntomas. Los tipos Ia y IIIa pueden requerir la administración intravenosa de dextrosa para gestionar una crisis inmediata de azúcar en sangre. Los trastornos hipoglucémicos también pueden ser regulados por medio de la dieta, con la alimentación frecuente de una dieta alta en carbohidratos.

#### ■ PATOLOGÍAS HEREDITARIAS DE LA SANGRE

Las patologías hereditarias de la sangre pueden afectar a sus tres componentes principales, glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas, así como a su porción líquida; el plasma. Las alteraciones hereditarias de la hemostasia engloban anomalías en la hemostasia primaria, coagulación y fibrinólisis como resultado de mutaciones genéticas. El rango de fenotipos varía desde la limitación de la vida hasta la ausencia de signos clínicos apreciables. La enfermedad de Von Willebrand es la patología hemostática primaria más común en perros. Otro grupo importante de patologías de la sangre son las que afectan a la función de los neutrófilos, como las deficiencias de adhesión leucocitaria (CLAD) y las hemato-poyesis cíclicas (síndrome del collie gris). La utilización de los análisis genéticos disponibles para estas enfermedades (*Tabla IV*) proporciona un diagnóstico inequívoco para la detección de portadores, permitiendo la eliminación progresiva de estos animales de los esquemas de apareamiento de las razas.

**TABLA IV. ENFERMEDADES SANGUÍNEAS PARA LAS QUE EXISTE UN TEST DE ADN DIAGNÓSTICO (JULIO 2014)**

Enfermedades sanguíneas		
Enfermedad	Gen	Razas afectadas
Deficiencia de adhesión leucocitaria canina tipo I (CLAD1)	<i>ITGB2</i>	Setter irlandés, cruces
Deficiencia de adhesión leucocitaria canina tipo III (CLAD3)	<i>FERMT3</i>	Pastor alemán, pastor blanco suizo, cruces
Deficiencia congénita de complemento C3	<i>C3</i>	Spaniel bretón
Deficiencia del factor VII	<i>FVII</i>	Beagle, alaskan klee kai, schnauzer, airedale, deerhound escocés

Deficiencia del factor XI	-	Kerry blue terrier
Deficiencia de piruvato kinasa eritrocitaria	<i>PKLR</i> (1bp del)	Basenji
	<i>PKLR</i> (G994A)	Beagle
	<i>PKLR</i> (C799T)	Labrador retriever
	<i>PKLR</i> (T848C)	Pug
	<i>PKLR</i> (6 pb ins)	West highland white terrier, cairn terrier
Deficiencia del receptor P2Y12 en plaquetas	<i>P2RY12</i>	Gran boyero suizo
Hemofilia B	<i>FIX</i> (G244E)	Rhodesian ridgebacks
	<i>FIX</i> (C777T)	Lhasa apso
	<i>FIX</i> (G1477A)	Cruce de cairn terrier y beagle
	<i>FIX</i> (del total)	Labrador
	<i>FIX</i> (del 5'-exón 6)	Pit bull terrier
	<i>FIX</i> (ins exón 8)	Airedale terrier
	<i>FIX</i> (ins intrón 5)	Pointer alemán de pelo duro
Inmunodeficiencia severa combinada	<i>IL-2RG</i>	Basset hound, welsh corgi, cardigan welsh corgi
	<i>RAG1</i>	Frisian
Macrotrombocitopenia congénita	<i>TUBB1</i>	Cavalier king charles spaniel
Neutropenia cíclica / Síndrome del Collie gris	<i>AP3B1</i>	Rough y smooth collie
Síndrome del neutrófilo atrapado (TNS)	<i>VPS13B</i>	Border collie
Trombastenia de Glanzmann	<i>ITGA2B</i> (exón 13, 14)	Perro de montaña de los pirineos
	<i>ITGA2B</i> (exón 12)	Otterhound
Trombopatía	<i>CalDAG-GEFI</i> (del TCT)	Basset hounds
	<i>CalDAG-GEFI</i> (ins A)	Spitz
	<i>CalDAG-GEFI</i> (C982T)	Landseers (tipo Continental-Europeo)
Von Willebrand tipo I	<i>vWf</i> (G7437A)	Varias razas <sup>1</sup>

Von Willebrand tipo II	vWf (exón 28)	Collie, pointer alemán, pointer, crestado chino, deutsch drahthaar
Von Willebrand tipo III	vWf (del en aa85)	Terrier escocés, shetland sheepdogs
	vWf (exón 3, 16)	Kooiker hound

<sup>1</sup>Terrier australiano, boyero de berna, coton de tuléar, doberman pinscher, pinscher alemán, kerry blue terrier, manchester terrier, papillon, corgi gales pembroke, todos los caniches, labradoodle australiano, drentsche paltrijshond, perro perdiguero danés, goldendoodle, setter irlandés, labradoodle, stabyhoun, west highland white terrier.

### Enfermedad de Von Willebrand

Las disfunciones de las plaquetas se clasifican tradicionalmente en extrínsecas e intrínsecas. Las primeras se presentan con una deficiencia de una proteína extrínseca necesaria para la función plaquetaria. La causa más común de esta deficiencia es la enfermedad de Von Willebrand (vWD). Las disfunciones intrínsecas afectan directamente a la función de las plaquetas.

El factor de Von Willebrand (vWF) se cree que es una proteína esencial en la adhesión de las plaquetas a áreas dañadas del endotelio. En su forma activa, vWF circula formando moléculas de varios tamaños unidas para conformar multímeros. Las distintas formas de vWD han sido clasificadas en 3 categorías diferentes dependiendo de si las deficiencias son estructurales, cuantitativas o ambas. Los distintos tipos de vWD caracterizados hasta ahora implican a un solo gen autosómico.

El tipo I es la forma más común de vWD y se caracteriza por una baja concentración de todos los multímeros. La mayoría de animales con este tipo de vWD presentan signos clínicos moderados, que suelen cursar con traumas, hematuria y pérdida prematura de los dientes de leche. Los portadores heterocigotos de vWD tipo I generalmente tienen menos de la mitad de la concentración plasmática normal de vWF, mientras que los homocigotos prácticamente no producen proteína. Está causada por una transversión de G a A en el último nucleótido del vWF, en el exón 43 (c.7437G > A) [Brewer et al. 1998]. La mutación activa un sitio de *splicing* unos pocos nucleótidos más arriba del sitio normal de *splicing*, llevando a un cambio en el marco de lectura que resulta en la formación de una proteína a la que le faltan 119 aminoácidos.

El vWD tipo II se caracteriza por una baja concentración de vWF con especial preferencia hacia los multímeros de alto peso molecular, lo que hace que la adhesión plaquetaria sea mucho menos efectiva. Se trata de una variante nucleotídica en el exón 28 del gen *VWF* de herencia autosómica recesiva simple [Kramer et al. 2004].

La ausencia total de todos los multímeros caracteriza al vWD tipo III. Es la forma más severa de la enfermedad, a menudo fatal. Se hereda de forma autosómica

recesiva y los individuos afectados no tienen vWF en su sangre. Los portadores heterocigotos tienen una reducción moderada de vWF pero generalmente conservan una hemostasis normal. En la raza terrier escocés, en la que se ha detectado la delección de una base correspondiente al aminoácido 85 de la proteína vWF como causa de la enfermedad (Venta et al. 2000), la prevalencia se sitúa entre el 18 y el 30%, dependiendo de los estudios. En la raza Kooiker Hound, Rieger et al. (1998) encontraron la asociación entre la incidencia de vWD tipo III y una transición de G a A en la primera posición del sitio de *splicing* del intrón 16. Esto genera un transcrito<sup>5</sup> que contiene 46 bases de la secuencia del intrón y un codón stop en la posición aminoácidica 729 de la proteína vWF.

### Deficiencia de adhesión leucocitaria canina (CLAD)

La deficiencia de adhesión leucocitaria canina (CLAD) integra a un grupo de enfermedades hereditarias autosómicas recesivas, que dan lugar a una disminución sustancial de la función de los neutrófilos, que muestran una reducción de su capacidad de adhesión y son incapaces de ingerir las partículas opsonizadas. Las características clínicas de estas inmunodeficiencias en el perro afectan a los cachorros desde el nacimiento e incluyen infecciones bacterianas recurrentes que responden mal a la terapia con antibióticos, gingivitis, fiebre, onfaloflebitis, falta de apetito, baja ganancia de peso, debilidad, lesiones de la piel, aumento del tamaño de los nódulos linfáticos periféricos y persistente y marcada neutrofilia. De forma adicional, los perros afectados tienen una mayor incidencia de lesiones óseas (ej. osteomielitis, periostitis y osteopatía craneal mandibular) y neumonía persistente. Las lesiones carecen de un componente significativo de neutrófilos ya que son incapaces de migrar a los tejidos en respuesta a infecciones. La prognosis de esta enfermedad es grave y los perros afectados suelen morir por infecciones bacterianas.

La primera mutación asociada con la incidencia de CLAD de Tipo I fue descubierta por Kijas et al. (1999). Afecta al setter irlandés y sus cruces, y está producida por una mutación en el gen  $\beta 2$ -integrin (*ITGB2*) que resulta en la sustitución de cisteína por serina en la posición 36 de la proteína (C36S). Las integrinas constituyen una familia de proteínas transmembrana esenciales para la adhesión entre las células y su entorno.

El CLAD de tipo III se produce por defectos en la activación de las  $\beta$ -integrinas que se atribuyen a una mutación en el gen *KINDLIN-3* (Boudreaux et al. 2010). Estos defectos afectan tanto a las  $\beta 1$ - y  $\beta 2$ -integrinas de los leucocitos, como a las  $\beta 3$ -integrinas de las plaquetas, por lo que además de manifestarse con los síntomas comunes de CLAD, los animales afectados presentan también disfunción de las plaquetas que lleva a la aparición de hemorragias. El análisis del gen *KINDLIN-3* identificó una inserción de 12 pares de bases en los animales afectados.

<sup>5</sup> Un transcrito es una secuencia de ARN mensajero que depende de los polimorfismos existentes en la cadena de ADN.

La eliminación de las distintas mutaciones responsables de vWD y CLAD mediante el análisis genético de los individuos destinados a la reproducción y la realización de cruces selectivos, constituye un objetivo importante para mejorar la salud y el bienestar de las razas afectadas por estas patologías.

## ENFERMEDADES DEL SISTEMA URINARIO

Las patologías hereditarias renales a menudo son progresivas y son la causa de fallo renal crónico en los animales afectados. En la *Tabla V* se recogen las enfermedades del sistema urinario para las que existe un test diagnóstico disponible, así como las razas a las que afectan.

### Hiperuricosuria e Hiperuricemia (HUU)

Esta enfermedad produce niveles elevados de ácido úrico en sangre y orina debido a un transporte ineficiente de este ácido tanto en el hígado como en los túbulos proximales del riñón, lo que predispone al desarrollo de urolitiasis por urato. La HUU es un desorden autosómico recesivo cuyo alelo mutado está fijado en todos los Dálmatas, es decir que todos los perros de esa raza son homocigotos para el alelo mutado. Es importante resaltar que se trata de un alelo con penetrancia incompleta por lo que a pesar de que todos los dálmata son homocigotos para el alelo causante de la hiperuricosuria no todos desarrollan la urolitiasis. La muta-

**TABLA V. ENFERMEDADES DEL SISTEMA URINARIO PARA LAS QUE EXISTE UN TEST DE ADN DIAGNÓSTICO (JULIO 2014)**

Enfermedades del Sistema Urinario		
Enfermedad	Gen	Razas afectadas
Cistadenoma renal y dermatofibrosis nodular	<i>BHD</i>	Pastor alemán
Cistinuria	<i>SLC3A1</i>	Terranova
Hiperuricosuria e hiperuricemia (HUU)	<i>SLC2A9</i>	Varias razas <sup>1</sup>
Hiperoxaluria primaria (PH)	<i>AGXT</i>	Coton de tulear
Nefritis hereditaria ligada al cromosoma X (XLHN)	<i>COL4A5</i>	Samoyedo
Nefropatía familiar	<i>COL4A4</i>	Cocker spaniel inglés
Síndrome de Fanconi	-	Basenji

<sup>1</sup>American pit bull terrier, american staffordshire terrier, pastor australiano, black russian terrier, bulldog, dálmata, pastor alemán, schnauzer gigante, jack russell terrier, labrador retriever, large munsterlander, parson russell terrier, pomerania, south african boerboel, weimaraner.

ción que causa esta enfermedad es la sustitución de una G por una T que conduce a un cambio aminoacídico de cisteína por fenilalanina (C188F) en la proteína codificada por el gen *SLC2A9*, un transportador de urato (Bannasch et al. 2008). La mutación identificada en dálmatas también está presente en otras razas de perro, muchas de ellas sin relación filogenética reciente con el dálmata, lo que indica que esta mutación ha debido estar presente en un ancestro común a todas esas razas. Se han descrito distintas frecuencias para el alelo mutado, variando desde 1 por mil hasta el 15% en las razas american staffordshire terrier, pastor australiano, pastor alemán, schnauzer gigante, jack russell terrier, labrador retriever, large munsterlander, pomerania, boerboel sudafricano, y weimaraner.

La prevalencia de urolitiasis de urato, causada por la mutación de la hiperuricosuria, puede ser disminuida con el tiempo mediante la disminución de la frecuencia del alelo mutado utilizando análisis de ADN.

#### OTRAS ENFERMEDADES Y CARACTERES DE INTERÉS

Por último, en la *Tabla VI* se recogen el resto de enfermedades para las que es posible conocer el estatus de sano, portador o enfermo mediante la realización de un análisis genético. En este apartado se incluyen enfermedades dermatológicas, musculares, endocrinas, fármaco-genéticas, cardíacas, esqueléticas, así como

**TABLA VI. OTRAS ENFERMEDADES PARA LAS QUE EXISTE UN TEST DE ADN DIAGNÓSTICO (JULIO 2014)**

Otras Enfermedades y Caracteres de Interés				
Grupo	Enfermedad	Gen	Razas afectadas	
Dermatológicas	Displasia ectodérmica hipohidróica (XHED)	<i>EDA</i>	Pastor alemán	
	Displasia folicular del pelo negro	-	Large münsterländer	
	Epidermólisis bullosa distróica (DEB)	<i>COL7A1</i>	Golden retriever	
	Hiperqueratosis epidermolítica	<i>KRT10</i>	Norfolk terrier	
	Ictiosis laminar (LI)		<i>PNPLA1</i>	Golden retriever
			<i>TGM1</i>	Jack russell terrier
	Dermatosis lupoide	-	Pointer alemán de pelo corto	
	Síndrome ectodérmico de la fragilidad de la piel (ED-SFS)	<i>PKP1</i>	Retriever de chesapeake	
Síndrome musladin-lueke (MLS)	<i>ADAMTSL2</i>	Beagle		

<b>Musculares</b>	Distrofia muscular	<i>DMD</i> (exón 51)	Cavalier king charles spaniel
		<i>DMD</i> (LINE-1)	Pembroke welsh corgi
		<i>DMD</i> (intrón 6)	Golden retriever
	Hipertrofia muscular (deficiencia de miostatina)	-	Whippets
	Miopatía centronuclear (CNM)	<i>PTPLA</i>	Labrador retriever
	Miopatía miotubular	<i>MTM1</i> (X-linked)	Labrador retriever
	Miotonía congénita	<i>CLCN1</i> (CIC-1)	Schnauzer miniatura
<i>CLCN1</i> (2665insA)		Pastor australiano	
<b>Endocrinas</b>	Enanismo pituitario	<i>LHX3</i>	Pastor alemán, perro lobo checoslovaco, perro lobo de Saarloos
	Enfermedad de addison juvenil (JADD)	-	Retriever de Nueva Escocia
	Hiperparatiroidismo primario (PHP)	-	Keeshond
	Hipotiroidismo congénito con bocio	<i>TPO</i>	Perro de agua español, toy fox terriers, rat terriers, tenterfield terriers
<b>Fármaco genéticas</b>	Hipertermia maligna (MH)	<i>RYR1</i>	Todas las razas
	Sensibilidad a ivermectina y otros fármacos	<i>MDR1 (ABCB1)</i>	Pastor australiano, border collie, collie, pastor alemán, old english sheepdog, shetland sheepdog, whippet
<b>Cardíacas</b>	Miocardiopatía arritmogénica de ventrículo derecho (ARVC)	<i>STRN</i>	Bóxer
	Miocardiopatía dilatada (DCM)	<i>PDK4</i>	Doberman pinscher
	Miocardiopatía dilatada juvenil (JDC)	<i>JDCM</i>	Perro de agua portugués

<b>Esqueléticas</b>	Condrodisplasia	<i>FGF4</i>	Teckel, corgi, basset hound
	Displasia cadera (HD)	<i>FBN2</i>	Labrador retrievers, galgo, border collies, pastor alemán, golden retrievers, terranova, rottweilers, gran danés
		<i>4 marcadores</i>	Labrador retriever, galgo, pastor alemán, terranova, golden retriever, rottweiler, border collie, bernese mountain dog
	Displasia esquelética 2 (SD2)	<i>COL11A2</i>	Labrador retriever
	Fisura palatina 1 (CP1)	-	Nova scotia duck tolling retriever
	Hernia discal	<i>36 marcadores</i>	Dachshunds
	Osteoartritis	<i>2 marcadores</i>	Labrador retriever, greyhounds, pastor alemán, terranova, golden retriever, rottweiler, border collie, bernese mountain dog
	Osteocondrodisplasia	<i>SLC13A1</i>	Caniche miniatura
	Osteogénesis imperfecta (OI)	<i>SERPINH1</i>	Teckel, más razas
	Osteopatía craneomandibular (CMO)	-	Cairn terrier, scottish terrier, west highland white terrier
<b>Otras enfermedades</b>	Hipoplasia congénita del esmalte (FEH)	<i>ENAM</i>	Italian greyhound
	Merle	<i>SILV</i>	Collie, border collie, pastor australiano, shetland sheepdogs, cardigan welsh corgi, teckel, gran danés
	Mucocele de la vesícula biliar	<i>ABCB4</i>	Shetland sheepdog
	Disquinesia ciliar primaria (PCD)	<i>CCDC39</i> (C286T)	Old English sheepdog
		<i>CCDC39</i> (Glu731AsnfsX31)	Bobtail
	Síndrome del conducto mülleriano persistente (PMDS)	<i>MISRII</i>	Schnauzer miniatura
	Sordera Neurosensorial Congénita (CCSD)	<i>MITF</i>	Dálmata

Otros Caracteres	Hiperactividad	<i>DRD4</i>	Husky siberiano, pastor alemán
		<i>TH</i>	
	Resistencia al calor	<i>MYH9</i>	Alaskan sprint racing sled
	Sprint/distancia	<i>ACE</i>	Alaskan sled

\*Orthopedic Foundation for Animals.

otras enfermedades y caracteres de interés en algunas razas, como la hiperactividad, que causa problemas de conducta en el husky siberiano y el pastor alemán, o la resistencia al calor, que favorece el rendimiento de los perros empleados en carreras de trineos.

### Sensibilidad a ivermectina (MDR1)

La ivermectina es un medicamento de amplio uso en el tratamiento de ciertas enfermedades producidas por ecto y endoparásitos, tanto en humanos como en animales. Sin embargo, en los collies se han descrito muchos casos de efectos secundarios por neurotoxicidad que incluyen depresión, ataxia, somnolencia, midriasis, salivación y temblores. La designación de "collie sensible a ivermectina" ha sido establecida en la bibliografía para describir esta particular sensibilidad incrementada. Además de a ivermectina, estos perros son también sensibles a otros fármacos como la doramectina, loperamida, vincristina, vinblastina y doxorubicina.

En 2001, Mealey et al. publicaron la descripción de una mutación asociada con el fenotipo sensible a ivermectina en el gen *MDR1* (también conocido como *ABCB1*). Consiste en una delección de 4 pares de bases en la secuencia palindrómica GATAG (ATAG o GATA) en la posición nucleotídica 230 que da lugar a un cambio en el marco de lectura a partir del aminoácido 75, seguido de un codón stop prematuro. La gran sensibilidad mostrada por los animales homocigotos para esta mutación se debe a que la mutación en el gen *MDR1* causa la disfunción de la proteína, que forma parte funcional de la barrera hemato-encefálica y normalmente limita la penetración de los fármacos en el cerebro. Su frecuencia varía entre el 6% en el old english sheepdog, hasta el 55% en collies.

En esta mutación, la dominancia del alelo normal sobre el mutado no es completa, lo que hace que los individuos heterocigotos expresen menos cantidad de proteína de la normal, lo que en algunas ocasiones no va a ser suficiente para desarrollar la función normal de la proteína. De manera que es difícil predecir cuál va a ser la reacción de los individuos heterocigotos, que también presentan sensibilidad a muchos medicamentos, aunque menos severa que la de los individuos homocigotos.

A pesar de que esta mutación no afecta de forma directa a la salud y la calidad de vida de los perros, la detección de los animales homocigotos mutados y portado-

res de la mutación en el gen *MDR1* (Figura 7) debería preceder a la terapia con fármacos en las razas predispuestas a esta anomalía, protegiendo así su seguridad al evitar los síntomas que el tratamiento con medicamentos inadecuados le pueden producir.

## DOS CASOS PARTICULARES: EL LABRADOR RETRIEVER Y LOS COLLIES

### Labrador retriever

Esta raza destaca, como ya se indicó en la introducción, por las numerosas patologías hereditarias que presenta, que alcanzan en la actualidad la cifra de 88 (Gough y Thomas 2004). Por lo menos para 11 de ellas se ha asociado una mutación con la incidencia de la enfermedad en esta raza (ver tablas):

1. Colapso por esfuerzo: *DNM1R*
2. Narcolepsia: *HCRT2*
3. Displasia de retina / displasia oculo-esquelética: *Col9A3*
4. Atrofia retinal progresiva (PRA) / degeneración progresiva de conos y bastones: *PRCD*
5. Deficiencia de piruvato kinasa eritrocitaria: *PKLR*
6. Hiperuricosuria e hiperuricemia (HUU): *SLC2A9*
7. Miopatía centronuclear (CNM): *PTPLA*
8. Miopatía miotubular: *MTM1*
9. Displasia cadera (HD): *FBN2*
10. Displasia esquelética 2 (SD2): *COL11A2*
11. Osteoartritis



Figura 7: Gel de poliacrilamida para la detección de los distintos genotipos de la mutación en el gen *MDR1*: sano (N N), portador (N del) y enfermo (del del).

### Collies

Las razas de perro de pastoreo con ascendencia collie se agrupan con el resto de razas de pastoreo y lebreles, diferenciándose de los otros cuatro grupos principales de razas caninas —asiáticas antiguas, mastiff/terrier, perros de caza y perros de montaña— (Parker et al. 2007). Dentro del grupo de razas de pastoreo/lebreles, los collies y shetland sheepdog forman un subgrupo estrechamente relacionado, mientras que el pastor australiano y el border collie forman el otro subgrupo



(Figura 8), por lo que es muy probable que compartan un ancestro común y que las anomalías genéticas que comparten estén causadas por mutaciones idénticas por descendencia. Ejemplos de estas variaciones serían la anomalía ocular del collie (CEA) o la sensibilidad a ivermectina y otros fármacos. Aunque estas anomalías son más frecuentes en los perros de pastoreo con ascendencia collie, también se encuentran en otras razas, principalmente dentro del grupo de perros de pastoreo, a las que se pudo haber transmitido el alelo mutado mediante cruces en etapas iniciales del desarrollo de esas razas (Parker et al. 2007).

A continuación, se detallan las patologías que afectan a cada una de estas razas y para las cuales se ha asociado una mutación (ver tablas):

#### Todas las razas:

- a. Anomalía ocular del collie (CEA): *NHEJ1*
- b. Sensibilidad a ivermectina y otros fármacos: *MDR1*
- c. Capa merle: causada por la inserción de un SINE en el gen *SILV* (ver capítulo 3). El merle tiene un modo de herencia autosómico de dominancia incompleta. Los perros heterocigotos y homocigotos (doble merle) para esta mutación<sup>6</sup>, además de mostrar la capa merle (Figura 11, border collie izquierda) en el primer caso y una capa merle predominantemente blanca

en el segundo caso, a menudo presentan un amplio rango de anomalías auditivas y oftalmológicas. El genotipo doble merle puede en ocasiones ser subletal y se asocia con múltiples anomalías esqueléticas, cardíacas y reproductivas, por lo que los cruces de merles heterocigotos están completamente desaconsejados (hay una probabilidad del 25% de obtener doble merles).

#### 1. Pastor australiano:

- a. Lipofuscinosis neuronal ceroides (LNC): *CLN6*
- b. Atrofia retinal progresiva (PRA) / Degeneración progresiva de conos y bastones: *PRCD*
- c. PRA / degeneración de conos: *CNGB3*.
- d. Catarata hereditaria: *HSF4*
- e. Retinopatía multifocal canina (CMR1): *VMD2*
- f. Hiperuricosuria e hiperuricemia (HUU): *SLC2A9*
- g. Miotonía congénita: *CLCN1*

#### 2. Border collie:

- a. Lipofuscinosis neuronal ceroides (LNC): *CLN5*
- b. Malabsorción de cobalamina (Vit B12): *CUBN*
- c. Síndrome del neutrófilo atrapado (TNS): *VPS13B*
- d. Displasia cadera (HD): *FBN2*
- e. Osteoartritis

#### 3. Collie:

- a. PRA / displasia de conos-bastones 2 (rcd2): *RD3*
- b. Neutropenia cíclica / síndrome del collie gris: *AP3B1*

#### 4. Shetland sheepdog:

- a. Mielopatía degenerativa (DM): *SOD1*
- b. Von Willebrand tipo III: *vWf*
- c. Mucocele de la vesícula biliar: *ABCB4*

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Rooney N, Sargan D. Pedigree dog breeding in the UK: a major welfare concern? Royal Society for the Prevention of Cruelty to Animals (RSPCA), West Sussex. 2008.

2. Abitbol M, Thibaud JL, Olby NJ, et al.. A canine Arylsulfatase G (ARSG) mutation leading to a sulfatase deficiency is associated with neuronal ceroid lipofuscinosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107. 2012; 14775-80.
3. Awano T, Katz ML, O'Brien DP, et al.. A mutation in the cathepsin D gene (CTSD) in American Bulldogs with neuronal ceroid lipofuscinosis. *Mol Genet Metab* 87, 2006; 341-8.
4. Awano T1, Katz ML, O'Brien DP, et al.. A frame shift mutation in canine TPP1 (the ortholog of human CLN2) in a juvenile Dachshund with neuronal ceroid lipofuscinosis. *Mol Genet Metab*. 2006 Nov;89 (3):254-60. Epub 2006 Apr 18.
5. Katz ML, Khan S, Awano T, et al.. A mutation in the CLN8 gene in English Setter dogs with neuronal ceroid-lipofuscinosis. *Biochem Biophys Res Commun* 327. 2006; 541-7.
6. Katz ML, Farias FH, Sanders DN, et al.. A missense mutation in canine CLN6 in an Australian shepherd with neuronal ceroid lipofuscinosis. *J Biomed Biotechnol*, 198042. 2011.
7. Melville SA, Wilson CL, Chiang CS, et al.. A mutation in canine CLN5 causes neuronal ceroid lipofuscinosis in Border collie dogs. *Genomics* 86. 2005; 287-94.
8. Sanders DN, Farias FH, Johnson GS, et al.. A mutation in canine PPT1 causes early onset neuronal ceroid lipofuscinosis in a Dachshund. *Mol Genet Metab* 100. 2010; 349-56.
9. Wöhlke A, Philipp U, Bock P, et al.. A one base pair deletion in the canine ATP13A2 gene causes exon skipping and late-onset neuronal ceroid lipofuscinosis in the Tibetan terrier. *PLoS Genet* 7, e1002304. 2011
10. Dekomien G, Vollrath C, Petrasch-Parwez E, et al.. Progressive retinal atrophy in Schapendoes dogs: mutation of the newly identified CCDC66 gene. *Neurogenetics* 11. 2010; 163-74.

11. Boudreaux MK, Wardrop KJ, Kiklevich V, et al.. A mutation in the canine Kindlin-3 gene associated with increased bleeding risk and susceptibility to infections. *Thromb Haemost* 103. 2010; 475-7.
12. Brewer GJ, Venta PJ, Schall W, et al.. DNA tests for von Willebrand's disease in Dobermans, Scotties, Shelties and Manchester terriers. *Canine Practice* 23. 1998; 45.
13. Kijas JM, Bauer TR Jr, Gäfvert S, et al.. (1999) A missense mutation in the beta-2 integrin gene (ITGB2) causes canine leukocyte adhesion deficiency. *Genomics* 61, 101-107.
14. Kramer JW, Venta PJ, Klein SR, Cao Y, Schall WD, et al. A von Willebrand's factor genomic nucleotide variant and polymerase chain reaction diagnostic test associated with inheritable type-2 von Willebrand's disease in a line of german shorthaired pointer dogs. *Vet Pathol* 41. 2004; 221-8.
15. Rieger M, Schwarz HP, Turecek PL, et al. Identification of mutations in the canine von Willebrand factor gene associated with type III von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 80. 1998; 332-7.
16. Venta PJ, Li J, Yuzbasiyan-Gurkan V, et al. Mutation causing von Willebrand's disease in Scottish Terriers. *J Vet Intern Med* 14. 2000; 10-9.
17. Bannasch D, Safra N, Young A, et al. Mutations in the SLC2A9 gene cause hyperuricosuria and hyperuricemia in the dog. *PLoS Genet* 4, e1000246. 2008
18. Mealey KL, Bentjen SA, Gay JM, et al. Ivermectin sensitivity in collies is associated with a deletion mutation of the MDR1 gene. *Pharmacogenetics* 11. 2001; 727-33.
19. Parker HG, Kukekova AV, Akey DT, et al. Breed relationships facilitate fine-mapping studies: a 7.8-kb deletion cosegregates with Collie eye anomaly across multiple dog breeds. *Genome Res* 17. 2007; 1562-71.