



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

A IMPORTÂNCIA DA ELECTRORETINOGRRAFIA PARA O DIAGNÓSTICO DE
RETINOPATIAS CANINAS

Clara Madureira Lima

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Graça Maria Alexandre Pires Lopes de Melo

Doutora Esmeralda Sofia da Costa Delgado

Doutora Maria de São José Sousa Deyrieux Centeno

Dr. Diogo Nuno Alves Costa Magno

ORIENTADOR

Dr. Diogo Nuno Alves Costa

Magno

CO-ORIENTADORA

Doutora Esmeralda Sofia da

Costa Delgado

Lisboa

2011



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

A IMPORTÂNCIA DA ELECTRORETINOGRÁFIA PARA O DIAGNÓSTICO DE
RETINOPATIAS CANINAS

Clara Madureira Lima

Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Graça Maria Alexandre Pires Lopes de Melo

Doutora Esmeralda Sofia da Costa Delgado

Doutora Maria de São José Sousa Deyrieux Centeno

Dr. Diogo Nuno Alves Costa

ORIENTADOR

Dr. Diogo Nuno Alves Costa

Magno

CO-ORIENTADORA

Doutora Esmeralda Sofia da
Costa Delgado

Lisboa

2011

Ao Jinho, Rosa, Bua e à Joana,

Ao Avô e à Tété,

À Bruninha, ao Zé, ao Pompeu e à Peggy.

AGRADECIMENTOS

Ao Hospital Veterinário do Restelo e ao Dr. Diogo Magno gostaria de agradecer a disponibilidade oferecida para a realização do meu estágio curricular. Ao Dr. Diogo em particular, quero agradecer o auxílio, empenho e o entusiasmo depositados na elaboração deste trabalho. Reconheço e valorizo o carácter pedagógico do seu acompanhamento e a atenção prestada ao longo do entusiasmante e enriquecedor período de aprendizagem passado no HVR.

À Dra. Esmeralda Delgado, um exemplo de profissionalismo e dedicação a esta profissão, gostaria de deixar um profundo agradecimento pelos conhecimentos transmitidos, pelo empenho, disponibilidade, carinho e atenção oferecidos nestes últimos meses.

À Mãe, ao Jinho, à Bua e à Joana, agradeço a infinita paciência, a dedicação, o carinho, a amizade e companheirismo que fazem dos nossos laços familiares o Norte e o Sul da bússula da minha vida. Ao Jinho, agradeço ainda a força de vontade, o acompanhamento e dedicação valiosa que em muito contribuiu para enriquecer este trabalho.

Aos amigos, colegas, companheiros e camaradas, agradeço o carinho, a presença constante, e a troca de experiências. Obrigada Marta Barros, Nuno Violas, André Raposo e João Alves, por serem *aqueles* amigos.

RESUMO

A importância da electroretinografia no diagnóstico de retinopatias caninas.

Introdução: A electroretinografia de campo total por *flash* (ERGf) é afectada por múltiplas variáveis biológicas e ambientais. Para alcançar resultados viáveis e reproduzíveis, o clínico deve: estabelecer valores controlo para os parâmetros avaliados (amplitude e tempo implícito das ondas *a* e *b*), a partir de indivíduos saudáveis categorizados por raça e idade e para o seu equipamento e condições de trabalho; deve ser consistente na técnica de electroretinografia seguida (incluindo o material utilizado, protocolo anestésico e procurando manter constantes as variáveis ambientais) e cumprir sistematicamente o mesmo protocolo de ERG. Aqueles indivíduos que apresentam ausência ou redução na amplitude e tempo de latência das ondas *a* e *b* não são candidatos a facoemulsificação, dado que estes resultados são compatíveis com DSAR ou APR e há um compromisso da função retiniana nestas situações.

Objectivo: Discussão dos resultados electroretinográficos obtidos a partir de sete cães que se apresentaram à consulta de Oftalmologia do HVR entre Setembro de 2009 e Fevereiro de 2010. Cinco cães eram candidatos a facoemulsificação e dois apresentaram história de perda progressiva ou súbita de visão.

Métodos: Na realização dos ERGf foi realizado o protocolo curto do ECVO e foram avaliadas a amplitude, tempo de latência e forma das ondas *a* e *b* obtidas para cada ERGf registado em condições fotópicas e escotópicas

Conclusões: Para uma avaliação e interpretação mais correctas dos ERGs registados no HVR, seria necessário criar uma base de electroretinogramas registados a partir de animais saudáveis, com uma distribuição por raça e idade. A pequena dimensão da amostra de casos estudada impede que sejam retiradas conclusões sobre os valores normais de amplitude, tempo de latência e forma das ondas electroretinográficas registadas em condições fotópicas e escotópicas. Uma vez que os animais não foram submetidos a ERG pós-operatório não é possível avaliar se os parâmetros tempo de latência e amplitude das ondas *a* e *b* foram afectados pela opacidade do cristalino nas cataratas maduras e hiper maduras.

Palavras chave: electroretinografia, onda *a*, onda *b*, tempo de latência, APR, DSAR, cataratas.

ABSTRACT

The importance of electroretinography for the diagnosis of canine retinopathies.

Because flash electroretinography (fERG) outcomes are influenced by multiple biological and extrinsic factors, reliable and reproducible results require that three preconditions are met: firstly the clinician must be consistent and follow an ERG protocol in a systematic fashion, under the same environmental conditions, using the same equipment and anesthetic protocol; secondly, for a better interpretation of the results, the clinician should ideally establish cut-off values for *a* and *b* wave amplitudes and implicit times from healthy individuals with the same age and breed. Lastly, those individuals who show a flat ERG or decreased *a* and *b* waves amplitude or implicit time shouldn't undergo phacoemulsification once these findings are compatible with SARDS or PRA, respectively, and a compromised retinal function.

Objectives: To discuss the ERG findings of five dogs that presented at HVR Ophthalmology service between September 2009 and February 2010 for pre-evaluation of retinal function prior to phacoemulsification and of two dogs presented with history of progressive or sudden blindness.

Methods: Each fERG was registered according to the ECVO short protocol, under photopic and scotopic conditions. The *a* and *b* waves amplitude, implicit time and shape were evaluated.

Conclusions: In order to achieve a more accurate and reliable interpretation of the fERG studied it would be necessary to previously establish a database by collecting data from healthy animals ERGs, according to breed and age. The statistically insignificant number of cases studied precludes the formulation of conclusions regarding the variability of *a* and *b* waves amplitude and implicit time, under both photopic and scotopic condition. Given that these animals haven't been subject to a new fERG after phacoemulsification, it is impossible to evaluate if any changes in implicit times and wave amplitudes occurred or whether these changes were related to the presence of a mature or hypermature cataract.

Key words: electroretinography, *a* wave, *b* wave, implicit time, PRA, SARD, cataracts.

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS	i
RESUMO	ii
ABSTRACT	iii
ÍNDICE GERAL	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE TABELAS	ix
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	xi
I. INTRODUÇÃO	1
II. A RETINA	3
1. DINÂMICA DO DESENVOLVIMENTO OCULAR: EMBRIOLOGIA DA RETINA.....	3
2. ANATOMIA E HISTOLOGIA DA RETINA (<i>Retina</i>)	6
2.1 Epitélio Pigmentar da Retina (EPR)	8
2.2 Fotorreceptores	9
2.3 Membrana Limitante Interna	9
2.4 Camada Nuclear Externa	9
2.5 Camada Plexiforme Externa	9
2.6 Camada Nuclear Interna	10
2.7 Camada Plexiforme Interna	12
2.8 Células Ganglionares	12
2.9 Fibras do Nervo Óptico	17
2.10 Membrana Limitante Interna	18
3. TOPOGRAFIA DO FUNDO DO OLHO	19
3.1 Fundo tapetal ou tapete lúcido (<i>tapetum lucidum</i>)	20
3.2 Fundo não tapetal (<i>tapetum nigrum</i>)	21
3.3 Disco do nervo óptico ou papila do nervo óptico	22
3.4 Vascularização do fundo tapetal	22
4. ELECTROFISIOLOGIA OCULAR	23
4.1 Propriedades das células fotorreceptoras: cones e bastonetes	24
4.2 Anatomia das Células Fotorreceptoras	28
4.3 Topografia das Células Fotorreceptoras	29
4.4 Fotopigmentos	30
4.5 O Ciclo Visual	32
4.6 O Mecanismo de Fototransdução	33
4.7 Via visual e processamento central da informação.....	36
5. FUNDAMENTOS DA VISÃO NOS CÃES	39
6. MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS DA RETINA	43
6.1 Achados oftalmoscópicos na presença de alterações patológicas do fundo do olho: Inflamação, Neurite do Nervo Óptico e Descolamento da Retina	45
6.2 Descolamento da retina	47
7. ALTERAÇÕES CONGÊNITAS E HEREDITÁRIAS DA RETINA	48
7.1 Displasia da Retina	50
7.2 Degenerescência Primária da Retina ou Atrofia Progressiva da Retina	51
7.2.1 Sintomas de APR	58
7.2.2 O Cão como modelo das Retinites Pigmentares Humanas	58
7.3 Neurite do Nervo Óptico e Síndrome da Retina Silenciosa ou Degenerescência Súbita e Adquirida da Retina	59
8. MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO DA RETINA E DAS VIAS VISUAIS	61
8.1 Reflexo Pupilar á Luz	61

8.2	Oftalmoscopia	63
8.3	Tomografia Óptica de Coerência (TOC)	64
8.4	Ecografia ocular	66
8.5	Tomografia axial computadorizada (TAC) e Ressonância Magnética (RM)	67
8.6	Angiografia	67
8.7	Potenciais visuais evocados (PVEs)	68
9.	ABORDAGEM AO PACIENTE INVISUAL: importância dos meios auxiliares de diagnóstico em oftalmologia e outros.	69
III.	ELECTRORETINOGRRAFIA	70
1.	Breve introdução histórica à Electroretinografia	70
2.	Aplicações práticas da Electroretinografia	72
2.1	ERG multifocal	72
2.2	ERG de campo total com <i>flash</i>	72
3.	Aspectos Técnicos da Electroretinografia	75
3.1	Constituição da unidade de electroretinografia	75
3.2	Difusores de luz e Fotoestimuladores	75
3.3	Preparação do Paciente	79
3.3.1	Dilatação da Pupila	79
3.3.2	Pré medicação anestésica e anestesia	80
4.	Aquisição de sinal	83
4.1	Eléctrodos	83
4.2	Reduzir o ruído: a importância dos filtros e amplificadores.....	86
5.	Electroretinografia: Técnica	87
5.1	Função dos Bastonetes e processo de adaptação ao escuro	89
5.2	Avaliação da função mista de cones e bastonetes	90
5.3	Avaliação da função dos cones	91
6.	Resumo do protocolo de diagnóstico de alterações dos fotorreceptores	96
7.	Resumo do protocolo de diagnóstico de alterações dos fotorreceptores	96
8.	Registo e interpretação dos resultados	96
8.1	Componentes do Electroretinograma	96
8.1.1	Ondas <i>a, b, c e i</i>	96
8.1.2	Potenciais oscilatórios (PO)	99
8.1.3	Limiar de resposta escotópica (LRE)	101
8.1.4	Resposta Fotópica Negativa (RFN)	102
8.2	Avaliação do ERG	103
9.	Factores influentes no Electroretinograma	104
10.	O relatório de ERG	106
11.	Manifestações electroretinográficas das alterações da visão mais frequentes em cães	107
.....		
IV.	ESTUDO CLÍNICO DE 7 ELECTRORETINOGRAFIAS REALIZADAS NO HVR	108
1.	INTRODUÇÃO	108
2.	OBJECTIVOS DO ESTUDO	108
3.	MATERIAIS E MÉTODOS	108
3.1.	APRESENTAÇÃO DOS CASOS CLÍNICOS: Resenho e anamnese	108
3.1.1.	Zookie	108
3.1.2.	Bijoux	109
3.1.3.	Mimi	110
3.1.4.	Whisky	110
3.1.5.	Nevão	110
3.1.6.	Athos	111
3.1.7.	Billy	111

3.2. EQUIPAMENTO	113
3.3. TÉCNICA	114
3.3.1. Preparação do Paciente	114
3.3.2. Protocolo	115
3.3.3. Registo dos resultados	115
4. RESULTADOS	115
4.1. Zookie (3.1.1): Cataratas congénitas	115
4.2. Bijoux (3.1.2): Cataratas congénitas	116
4.3. Mimi (3.1.3): Cataratas diabéticas	117
4.4. Whisky (3.1.4): Cataratas inflamatórias	117
4.5. Nevão (3.1.5): Perda súbita de visão e hipotiroidismo	118
4.6. Athos (3.1.6): História de perda progressiva de visão, cataratas e hipotiroidismo	120
4.7. Billy (3.1.7): Cataratas senis	120
5. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	121
5.1. Zookie (3.1.1) e Bijoux (3.1.2): Cataratas congénitas	121
5.2. Mimi (3.1.3): Cataratas diabéticas	122
5.3. Whisky (3.1.4): Cataratas inflamatórias	122
5.4. Nevão (3.1.5): Perda súbita de visão e hipotiroidismo	123
5.5. Athos (3.1.6): Perda progressiva de visão associada a cataratas e história de hipotiroidismo	123
5.6. Billy (3.1.7): Cataratas senis	124
V. DISCUSSÃO GERAL	125
VI. BIBLIOGRAFIA	129
VII. ANEXOS	136
1. Conceitos e definições básicas sobre passagem de corrente eléctrica	136

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1 - Desenvolvimento embrionário do olho de um animal vertebrado. (Adaptado de Gilbert, 2000)	5
Fig. 2 – Esquema da anatomia do olho do cão (adaptado de Peiffer & Petersen-Jones, 2009). .	7
Fig. 3 – Relações funcionais e estruturais entre as diferentes células da retina. (adaptado de Kolb, Fernandez & Nelson, 2003).....	11
Fig. 4 - Retina normal do coelho. (adaptado de Lewis et al., 2010).....	12
Fig. 5 - Associações celulares entre fotorreceptores, células bipolares e células ganglionares. (Adaptado de Chaudieu e Molon-Noblot, 2004)	13
Fig. 6 - Diagrama de distribuição de CG pela retina. (adaptado de Peichl, 1992, e de Slatter, 2008)	16
Fig. 7 - Constituição histologia da retina: corte histológico da retina com coloração de hematoxilina-eosina; barra 23 µm. Imagem de Jorge (2009), gentilmente cedida pela Prof. Maria Luisa Mendes-Jorge, FMV-UTL.	19
Fig. 8 - Sensibilidade fotométrica em canídeos. (Adaptado de Jacobs, Deegan, Crognale & Fenwick, 1993)	27
Fig. 9 - Detalhe dos fotorreceptores (cones e bastonetes). Imagem obtida por microscopia electrónica de varredura sobre tecido intacto. Barra: 6 µm. SE: segmento externo; SI: segmento interno. Imagem de Jorge (2009), gentilmente cedida pela Prof. Maria Luisa Mendes-Jorge, FMV-UTL.	28
Fig. 10 - Estrutura interna de um bastonete.	29
Fig. 11 - Radiações electromagnéticas e espectro de luz visível.	31
Fig. 12 - Ciclo Visual	33
Fig. 13 - Mecanismo de Fototransdução (adaptado de Petersen-Jones, 2005).....	36
Fig. 14 - Via Visual (adaptado de Peiffer & Petersen-Jones, 2008).....	37
Fig. 15 - Exemplo de um ERG de campo total por <i>flash</i> realizado sob condições fotópicas usando <i>flashes</i> de luz de intensidade <i>standard</i> a um cão com história de perda súbita de visão. Imagem gentilmente cedida pelo Dr. Diogo Magno, HVR.	61
Fig. 16 – Exemplo de TOC. Retina Humana. (adaptado de Fercher, Hitzemberger & Lasser, 2003)	65
Fig. 17 – Exemplo de ecografia ocular. Imagem gentilmente cedida pelo Dr. Diogo Magno, HVR.	66
Fig. 18 - Representação hexagonal de um ensaio de ERG multifocal.....	73
Fig. 19 - Exemplo de um conjunto de eléctrodos de ERG.....	77
Fig. 20 - Representação de um ERG escotópico (adaptado de Rosolen, Kolomiets, Varela & Picaud, 2008)	89
Fig. 21 - Função da sensibilidade espectral (eixo dos yy) em função do comprimento de onda (nm) (eixo dos xx) após 2 horas de adaptação ao escuro. (adaptado de Yanase, Ogawa e Ohtsuka, 1995)	92
Fig. 22 - Relação entre as células da retina e a origem do electroretinograma. (adaptado de Peiffer, 2009)	103
Fig. 23 - Zookie: cataratas	109
Fig. 24 (esquerda) - Eléctrodos de ERG: conjuntivais (positivos), auriculares (referência) e occipital (terra).....	113
Fig. 25 (direita) - Eléctrodos conjuntivais.....	113
Fig. 26 - Fotoestimuladores tipo difusor óptico.....	114
Fig. 27 - ERG do Zookie: A. Escotópico; B. Fotópico.....	116
Fig. 28 - ERG Bijoux : A. Escotópico; B. Fotópico.....	116
Fig. 29 - ERG da Mimi: A. Escotópico; B. Fotópico.....	117
Fig. 30 - ERG do Whisky: A. Escotópico; B. Fotópico.....	118
Fig. 31 - Nevão: A. Escotópico; B. Fotópico.....	119

Fig. 32 - Nevão: repetição do ERG. A. Escotópico; B. Fotópico.....	119
Fig. 33 - Athos: A. Escotópico; B. Fotópico.....	120
Fig. 34 - ERG Billy: A. Escotópico; B. Fotópico.....	120

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1- Camadas celulares da retina (adaptado de Slatter, 2008).....	7
Tabela 2 - Resumo das características electrofisiológicas dos fotopigmentos.	27
Tabela 3 - Classificação das APR por Parry.	54
Tabela 4 - Tipos de APR (adaptado de Slatter, 2008).....	56
Continuação da tabela Tabela 5 - Tipos de APR (adaptado de Slatter, 2008)	57
Tabela 6 - Alterações oftalmoscópicas encontradas na APR (adaptado de Gelatt, 2007)	58
Tabela 7 - Curvas normais obtidas com esfera <i>ganzfeld</i> . (adaptado Narfström, Andersson, Andreasson & Gouras, 1995).....	95
Tabela 8 - Alterações electroretinográficas presentes nas patologias que conduzem a cegueira em canídeos. (adaptado de Slatter, 2008)	107
Tabela 9 - Resumo da história e exame oftálmico. (N – normal; P – presente; A – ausente; R - reduzido).....	112
Tabela 10 – Avaliação dos ERGf estudados.....	121
Tabela 11 - Genes, mutações e testes disponíveis para as retinopatias hereditárias caninas. (Adaptado de Abitbola, Andréb, Queneyc e Chaudieud, 2010)	138
Tabela 12 - Classificação das APR (adaptado de Slatter, 2008; Gellat, 2007 e de Gould, Peterson-Jones & Sargan, 2002).....	140
Tabela 13 - Principais Características das Doenças Hereditárias da Retina (adaptado de Gould, Petersen-Jones e Sargan, 2002)	141

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

µm - micrometro
ADN - ácido desoxirribonucleico
APR – atrofia progressiva da retina
BMP - *bone supression morphogenetic protein*
BVA/KC/ISDS – British Veterinary Association/ Kennel Club/ International Sheep Dog Society
cd/m²/s – candela/ metro quadrado/segundo (unidade de luminância do Sistema Internacional)
CG - células ganglionares retinianas
CGRif - células ganglionares retinianas intrinsecamente fotossensíveis
DO - disco óptico
DR - displasia da retina
DSAR - degenerescência súbita adquirida da retina
ECVO - European College of Veterinary Ophthalmology
EPR - epitélio pigmentar da retina
ERG - electroretinografia
FS - *flash standard*
HVR - Hospital Veterinário do Restelo.
Hz – Hertz; unidade do Sistema Internacional para frequência
im - intramuscular
ISCEV - *International Society for Clinical Electrophysiology of Vision* (Sociedade Internacional de Eletrofisiologia Visual Clínica)
iv - intravenoso
LRE - Limiar de resposta escotópica
min - minutos
mm – milímetro
mmHg – milímetros de mercúrio
ms - milissegundo
mV – milivoltes, sendo o Volt (V) a unidade do Sistema Internacional de diferença de potencial e de força eletromotriz.
nm - nanómetro
NO - nervo óptico
°C - graus Celcius ou centígrados (unidade do sistema internacional para temperatura)
OD - olho direito
OE - olho esquerdo
OU - ambos os olhos
PAAF - punção aspirativa por agulha fina
PaO - pressão arterial do oxigénio
PCO₂ - pressão de dióxido de carbono
PCR - *polymerase chain reaction*
PIO - pressão intraocular
RFN - resposta fotópica negativa
RP - retinite pigmentar
RPL - reflexo pupilar á luz
sc - subcutâneo
s - segundos

SNC - sistema nervoso central

TL - tempo de latência

K Ω - kilo-Ohm, sendo o Ohm (Ω) a unidade do Sistema Internacional para resistência eléctrica.

μ A – microampère, sendo o ampere (A) a unidade do Sistema Internacional para intensidade da corrente eléctrica.

I. INTRODUÇÃO

No seguimento dos estudos teórico-práticos e como última, mas não menos importante, componente para concluir o Mestrado Integrado em Medicina Veterinária (de acordo com a revisão de Bolonha), a presente autora realizou o seu estágio curricular no Hospital Veterinário do Restelo (HVR) sob a orientação do Dr. Diogo Magno.

Com o objectivo pessoal e académico de colocar em prática os conhecimentos adquiridos ao longo da sua formação superior, desenvolver novas competências e adquirir capacidades técnicas, científicas e humanas para ingressar na Profissão de Médico Veterinário, a autora acompanhou o trabalho realizado neste hospital durante um período de 6 meses com uma média de 40 horas de trabalho semanais.

Por forma a possibilitar o acompanhamento de todo o tipo de situações clínicas, incluindo urgências, o estágio foi efectuado num horário rotativo semanal com alternância de turnos, cobrindo noites, fins-de-semana e feriados.

Durante o estágio curricular no HVR a autora procurou acompanhar o trabalho desenvolvido por todos os clínicos desta instituição com particular incidência na Clínica de Animais de Companhia (incluindo especialidade como Oftalmologia, Cardiologia, Dermatologia, Neurologia e Ortopedia, Comportamento Animal e Clínica de Espécies Exóticas, não descurando a consulta geral de aconselhamento e profilaxia), Cirurgia de Tecidos Moles e Traumatologia/Ortopedia, Imagiologia e Patologia Clínica.

Na área da Medicina Interna foi permitido à autora, aluna estagiária, assistir e colaborar com o Médico Assistente na consulta, desenvolvendo capacidades na contenção dos animais, recolha e construção da história pregressa, exame físico, construção de um plano de diagnósticos diferenciais, decisão sobre meios auxiliares de diagnóstico a recorrer, recolha de sangue e urina para análise, elaboração de planos terapêuticos e administração de fármacos.

Na pequena cirurgia, cirurgia de tecidos moles (incluindo cirurgia oftálmica) e ortopédica, a aluna estagiária foi muitas vezes responsável pela preparação pré-anestésica do paciente e da sala de cirurgia, desempenhou funções de anestesista, circulante ou auxiliar de cirurgião e ficava responsável pela monitorização e assistência ao paciente no recobro da cirurgia. No internamento a aluna estagiária colaborava com o médico assistente e corpo de enfermagem na monitorização dos animais internados e na administração de medicamentos.

O HVR possui um laboratório interno com equipamento que permite obter hemogramas, análises bioquímicas diversas, ionogramas e análises de urina, bem como um médico patologista geral que assegura a observação e interpretação de citologias e esfregaços, análise

de sedimento urinário e de líquidos de derrame, entre outras. A aluna estagiária teve oportunidade de aprender a trabalhar com todo este equipamento e de acompanhar o trabalho do médico assistente no laboratório.

No que diz respeito à técnica e interpretação de exames complementares de imagem, a aluna estagiária teve oportunidade de assistir e desenvolver capacidades na interpretação de diversas ecografias abdominais e ecocardiografias, de aprender a posicionar os pacientes no raio-X, interpretar imagens radiológicas de estruturas ósseas e moles, bem como de estudos de contraste (positivo) tais como trânsitos baritados, urografias de excreção e mielografias.

Durante este período de tempo a autora, e então aluna estagiária no HVR, teve oportunidade de presenciar e prestar auxílio à elaboração de electroretinografias em canídeos candidatos a facoemulsificação ou que se apresentaram à consulta de Oftalmologia por motivo de perda súbita ou progressiva de visão. Decorrente da utilização deste meio auxiliar de diagnóstico em Oftalmologia no HVR e graças à disponibilidade e interesse demonstrados pelo Dr. Diogo Magno em apoiar este trabalho, associado ao crescente interesse pela Oftalmologia Veterinária da autora aluna estagiária, surgiu o presente estudo monográfico sobre a aplicação da Electroretinografia no diagnóstico de patologias da retina em Canídeos com uma avaliação retrospectiva e apresentação de 7 casos clínicos seguidos neste hospital durante o período compreendido entre Setembro de 2009 a Fevereiro de 2010.

II. A RETINA

1. DINÂMICA DO DESENVOLVIMENTO OCULAR: EMBRIOLOGIA DA RETINA

O desenvolvimento do olho (à semelhança dos diferentes órgãos) pode ser dividido em três fases: *embriogénese* (fase de diferenciação das três camadas primárias que formam o embrião; tem início na fertilização e termina com a individualização da endoderme, mesoderme e ectoderme), *organogénese* (fase onde decorre a organização das três camadas embrionárias no padrão geral dos diferentes órgãos) e *diferenciação* (última fase do desenvolvimento embrionário onde ocorre um desenvolvimento detalhado das características estruturais de cada órgão). (Barishak & Ofri, 2007)

As diferenças verificadas entre as várias espécies no que diz respeito ao desenvolvimento dos olhos estão relacionadas com a duração da gestação, com a localização anatómica final dos olhos e com a idade em qual se verifica a abertura das pálpebras. (Barishak & Ofri, 2007)

Aos 11 dias de gestação* o embrião apresenta 16 células e encontra-se no estado de *mórula*. Entre o 14º e 20º dia assume o estado de *blastocisto* ou embrião de duas camadas celulares†. Quando se forma o sulco primitivo ao longo do eixo antero-posterior da porção caudal do blastocisto e com um nodo caudal (nodo de Hensen), tem início a diferenciação da *gástrula* ou embrião de três camadas (ectoderme, endoderme e mesoderme). Algumas células epiblasticas penetram pelo nodo caudal de Hensen e migram cranialmente ao longo da linha média sob o sulco primitivo, formando a *notocorda*. Do nodo de Hensen são libertados sinais que vão induzir a diferenciação da ectoderme (que reveste a *gástrula*) para formar a placa neural. Estes sinais incluem, entre outros, a supressão da proteína responsável pela morfogénese dos osso (BMP ou *bone morphogenetic protein*) e actividade das vias de sinalização do “*wingless related mouse mammary tumor virus integration site*”. As BMPs formam uma família de moléculas sinalizantes relacionadas com elementos da superfamília dos TGF ou *transforming growth factor*. Nos animais vertebrados estes factores expressam-se em vários tecidos e órgãos embrionários, regulando a apoptose e proliferação celular. (Barishak & Ofri, 2007)

Um terceiro factor a ter em conta, pela sua importância, é o das células estaminais da retina. Durante o processo de clivagem da *mórula*, este grupo de células embrionárias pluripotentes adquire competências e contribui para a formação da retina. Um subconjunto mais pequeno desta classe de células vai produzir os precursores definitivos da retina embrionária ou DRPs

* O dia 1 de gestação corresponde ao dia em que se verifica o pico máximo da hormona luteinizante.

† epiblasto dorsalmente e hipoblasto ventralmente que dividem a cavidade blastocítica em cavidade amniótica dorsalmente e saco vitelino ventralmente.

(*definitive embryonic retina producing precursors*) que darão origem a todas as estruturas da retina madura. Mais tarde, durante a morfogénese do tubo neural, vão ocorrer outras interacções que conduzem à segregação da população de DRPs em três estruturas principais: o pedículo óptico[‡], o epitélio pigmentar da retina e a retina nervosa. Cada uma destas estruturas vai produzir diferentes subconjuntos de células progenitoras da retina, especializadas na diferenciação de células que vão adquirir funções distintas na retina madura. (Barishak & Ofri, 2007)

Uma vez formada a placa neural, os seus bordos livres elevam-se em pregas e reúnem-se dorsalmente sobre a linha média do embrião. Depois de se fundirem forma-se um lúmen, o tubo neural. (Barishak & Ofri, 2007)

As células da placa neural são células neuroepiteliais e dividem-se rapidamente. Na extremidade cranial do tubo neural vão formar três tumefacções, as vesículas cerebrais primárias, separadas entre si por constrições. São estas: o Prosencéfalo, o Mesencéfalo e o Rombencéfalo. Simultaneamente forma-se a Flexura Cefálica que corresponde à flexão do tubo neural na porção medial do cérebro, entre o Mesencéfalo e o Rombencéfalo. Mais tarde o Prosencéfalo subdivide-se em Telencéfalo (anteriormente) e Diencefalo (posteriormente).

Durante a gestação, a formação do olho (organogénese propriamente dita) tem início muito cedo e dá-se a partir do desenvolvimento de uma protuberância do Telencéfalo. Esta estrutura, denominada vesícula óptica (fig. 1A), cresce a partir do cérebro para o exterior e em direcção à ectoderme, mantendo-se ligada ao encéfalo por meio do pedículo óptico. À medida que a vesícula óptica se aproxima da ectoderme induz a formação do placóide da lente (*lentis*)[§]. Esta estrutura embrionária ganha espessura e migra para o interior da vesícula óptica (fig. 1B), separando-se da superfície da ectoderme. A porção de ectoderme que contacta com o placóide da lente reestrutura-se e forma o epitélio que dará origem à córnea (*corneae*) (fig. 1D). Ao longo deste processo a vesícula óptica colapsa e forma a tacícula óptica bilaminar, constituída por duas camadas celulares (interna e externa). (Wilcock, 2007)

As células da camada celular mais externa da tacícula óptica bilaminar (fig. 1C) produzem melanina e formam a retina pigmentar. As células da camada mais interna proliferam rapidamente e diferenciam-se em células da glia, células ganglionares, interneurónios e fotoreceptores (neurónios especializados em captar fotões de luz). No seu conjunto estas células constituem a retina nervosa ou neuro-sensorial. Os axónios das células ganglionares

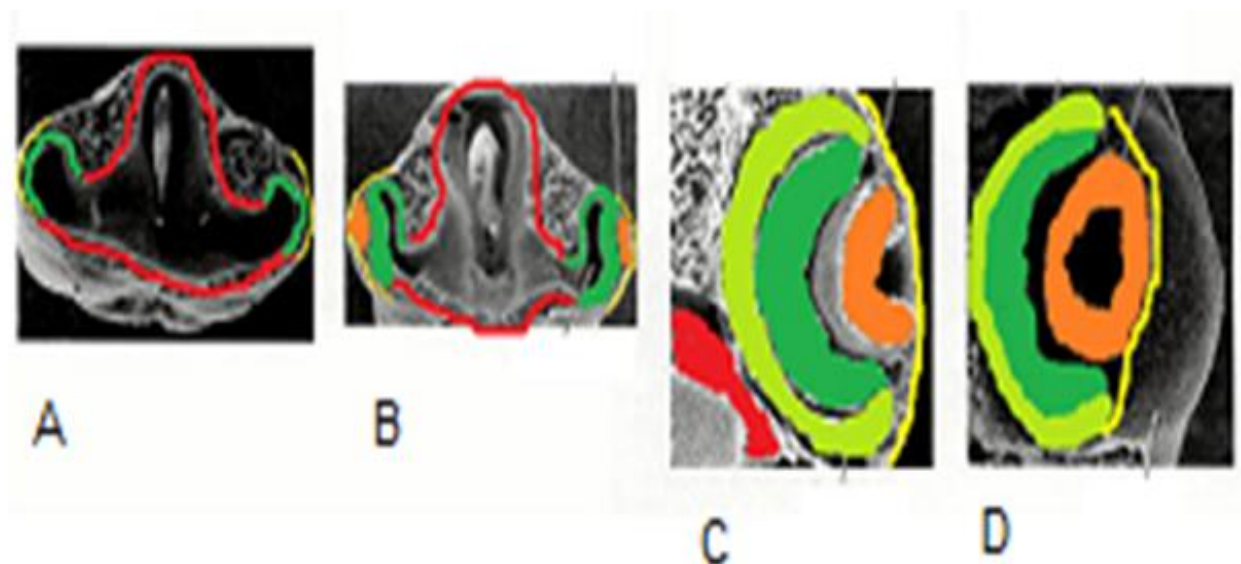
[‡] resulta da evaginação do tubo neural que origem à tacícula óptica numa extremidade e ao pedículo óptico na outra;
é o precursor do nervo óptico.

[§] Lente ou cristalino

reúnem-se ao nível do disco óptico (*discus nervi optici*; DO) onde se juntam para formar o nervo óptico (*nervi optici*; NO) ou nervo craniano II. (Gilbert, 2000)

Boevé, Van der Linde-Sipman & Stades (1988) elaboraram um estudo sobre a morfogénese da lente, da cápsula da lente, do sistema vascular e do corpo vítreo do olho do cão. Os autores acompanharam o desenvolvimento embrionário desta espécie desde o dia 25 ao dia 35 pós-coito. Ao 25º dia pós coito ocorre a primeira indicação de diferenciação da camada multicelular interna da tacícula óptica bilaminar (percursora da retina nervosa) em duas camadas celulares: interna e marginal; externa e nucleada. Nesta fase do desenvolvimento embrionário já são visíveis grânulos de melanina nas células da camada celular externa da tacícula óptica bilaminar que originarão o epitélio pigmentar retiniano. Esta pigmentação ocorre no sentido antero – posterior. No 30º dia de embriogénese a porção anterior do epitélio pigmentar retiniano já se encontra diferenciada num epitélio pseudoestratificado colunar. É possível observar nesta altura, e pela primeira vez, algum grau de organização da camada de fibras nervosas no pólo posterior da retina. Ao 33º dia as camadas neuroblásticas interna e externa da retina podem ser identificadas como independentes na região posterior ao equador. A camada de fibras nervosas é agora proeminente, com os axónios a organizarem-se para formar o NO. Ao 35º dia pós-coito já é visível pigmentação do epitélio pigmentar da retina na porção posterior ao equador do cálice óptico.

Fig. 1 - Desenvolvimento embrionário do olho de um animal vertebrado. (Adaptado de Gilbert, 2000)



A: Embrião com 4 mm; a **vesícula óptica** evagina do Telencéfalo e contacta com a **ectoderme** sobrejacente, induzindo a formação do **placoide da lente** (B); B: embrião com 4,5 mm; a ectoderme diferencia-se em células da **lente**; C: a **vesícula óptica** dobra-se sobre si mesma dando origem à tacícula óptica bilaminar e o placoide da lente diferencia-se na **vesícula da lente**; as duas camadas celulares da tacícula óptica vão-se diferenciar para formar a **retina pigmentar** e a **retina nervosa**. D: a vesícula que forma a lente induz a formação da **córnea** a partir da ectoderme sobrejacente.

O mesênquima** peri-ocular que deriva da crista neural dará origem à esclera, estroma da úvea e vasos sanguíneos (artéria hialoide e túnica vascular) que irão nutrir a lente e retina em desenvolvimento. As pálpebras, músculos extra-oculares, glândula lacrimal e órbita desenvolvem-se de forma independente das restantes estruturas do globo ocular e não são geralmente afectados pelas doenças que prejudicam o desenvolvimento do globo ocular. (Wilcock, 2007)

Ao conjunto da neuro-retina e do NO denomina-se “oftalmencéfalo” pois representam uma expansão do encéfalo projectada para o interior da órbita. À semelhança do cérebro e do cerebelo, a retina neuronal desenvolve-se e transforma-se num tecido organizado formado por várias camadas de diferentes tipos de neurónios.

Estas camadas incluem cones e bastonetes (fotorreceptores sensíveis à luz e às cores), corpos celulares de células ganglionares e interneurónios bipolares que transmitem os impulsos eléctricos gerados nos bastonetes e cones para as células ganglionares. Além destas, existem numerosas células de Müller (células da glia) que mantêm a integridade da retina, células Amácrinas (neurónios com longos axónios) e células Horizontais que transmitem impulsos eléctricos no plano horizontal da retina. (Wilcock, 2007)

2. ANATOMIA E HISTOLOGIA DA RETINA (*Retina*)

A visão é, sem margem para dúvidas, o sentido que permite ao Homem e animais recolher informação de forma mais detalhada a partir do meio que os envolve. Com a ajuda de uma estrutura anatómica tão especializada e desenvolvida como é o globo ocular, a luz por ele recebida permite criar uma imagem mais ou menos detalhada do ambiente, conforme a espécie em questão, intensidade luminosa, cor e energia do raio luminoso. (Schmidt-Nielsen, 1998)

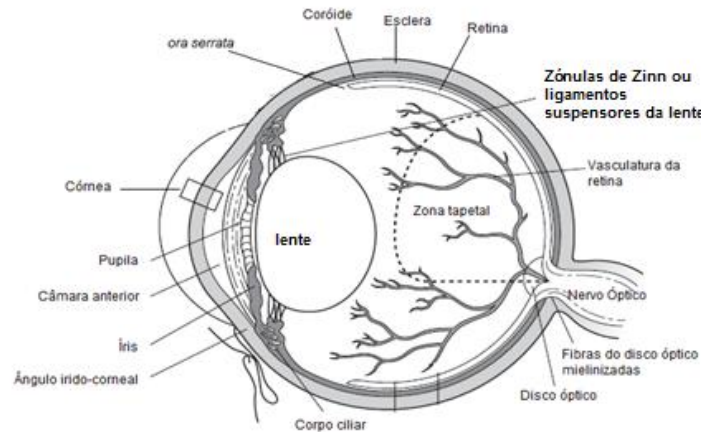
Neste contexto, encaramos a retina como a verdadeira razão de ser do globo ocular. A córnea, cristalino, úvea e esclera são apenas estruturas adjuvantes que permitem à retina cumprir o seu papel: converter fotões de luz visível em impulsos eléctricos que são transmitidos ao córtex visual do cérebro. (Wilcock, 2007)

No que diz respeito à descrição anatómica da retina, esta estende-se desde o disco óptico até à pupila. É constituída por duas porções: óptica ou “visual” (posterior) e “cega”, insensível à luz, constituída pela porção ciliar (média) e pela porção iridiana (anterior) da retina. A parte óptica da retina, estende-se desde disco óptico até à *ora ciliaris retinae*^{††}.

A parte óptica da retina é a sua componente fotossensível e aquela com maior interesse para o estudo da electroretinografia.

** tecido embrionário com origem na mesoderme.

†† Linha marginal que separa a porção “visual” da retina do corpo ciliar e porção “não visual” da retina.

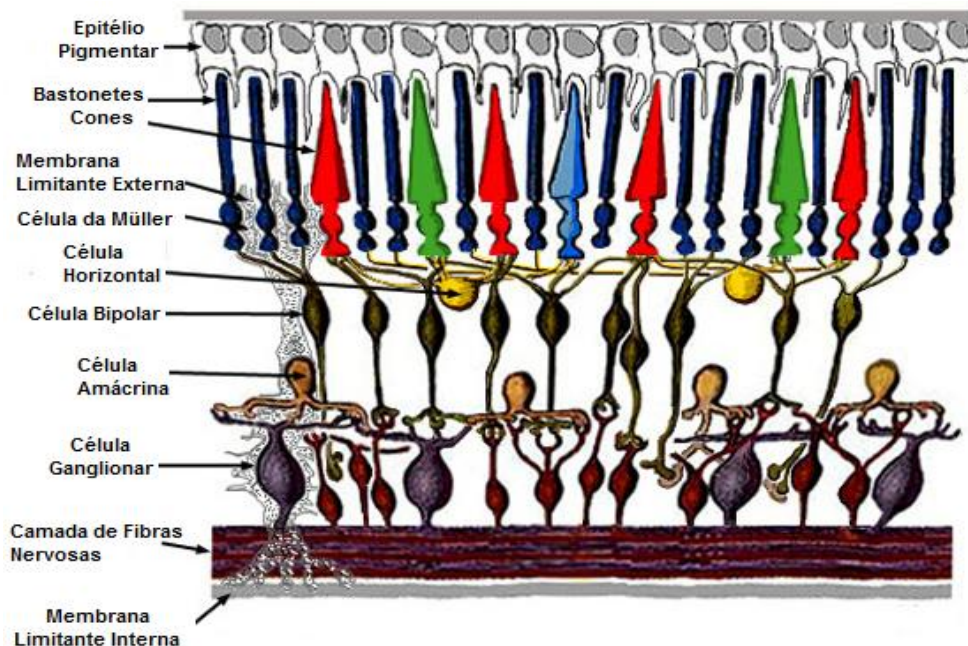
Fig. 2 – Esquema da anatomia do olho do cão (adaptado de Peiffer & Petersen-Jones, 2009).

Em termos histológicos a retina neuronal é formada por três unidades sensoriais de neurónios (I, II e III) que constituem, de dentro para fora, a camada de células ganglionares, camada nuclear interna e camada nuclear externa. A separar estas três camadas de células existe uma matriz sem corpos celulares, composta por um entrelaçado dos axónios e dendrites dessas células, onde ocorrem as sinapses. Estas camadas intermédias denominam-se Plexiforme Interna e Plexiforme Externa.

A nível histológico distinguem-se 10 camadas celulares na retina (1-10), que se estendem desde o epitélio pigmentado da retina (camada mais afastada do vítreo) até à membrana limitante interna (interface com a membrana hialoideia posterior do vítreo). (Adaptado de Slatter, 2008)

Tabela 1- Camadas celulares da retina (adaptado de Slatter, 2008)

1	Epitélio Pigmentado da Retina (<i>Stratum Pigmentosum</i>)		Retina não sensorial
2	Camada de fotorreceptores (<i>Stratum neuroepitheliale</i>)	Neurónio I Camada nuclear externa	Retina sensorial ou neuroretina
3	Membrana limitante externa (<i>Stratum limitans externum</i>)		
4	Camada nuclear externa (<i>Stratum nucleare externum</i>)		
5	Camada plexiforme externa (<i>Stratum plexiforme externum</i>)		
6	Camada nuclear interna (<i>Stratum nucleare internum</i>)		
7	Camada plexiforme interna (<i>Stratum plexiforme internum</i>)		
8	Camada de células ganglionares (<i>Stratum ganglionicum</i>)	Neurónio III Camada de células ganglionares	
9	Camada de fibras do nervo óptico (<i>Stratum neurofibrarum</i>)		
10	Membrana limitante interna (<i>Stratum limitans internum</i>)		

Fig. 2 - Diagrama da organização celular da retina. (adaptado de Kolb, Fernandez, & Nelson, 2003).

2.1 Epitélio Pigmentar da Retina (EPR)

O Epitélio Pigmentar (EPR)(1) consiste numa monocamada epitelial de células poligonais, não sensoriais, que forma a camada mais externa da retina e assenta sobre a Membrana de Bruch^{‡‡} ou membrana basilar da coróide (adaptado de Peña, 2009). É pigmentada na porção não-tapetal do fundo ocular, conferindo uma cor castanha homogénea a esta porção da retina. (Slatter, 2008)

Tem origem na camada exterior da vesícula óptica e não apresenta um papel activo nos mecanismos de visão (Wilcock, 2007), apesar da sua função normal ser essencial à integridade e funcionamento da retina. (Slatter, 2008)

As células do EPR envolvem o segmento externo dos fotorreceptores e delas depende a nutrição dos cones e bastonetes, bem como a fagocitose dos segmentos externos dessas células que sofrem um acelerado desgaste durante os processos de absorção de luz e fototransdução. Estas células desempenham igualmente um papel importante no metabolismo dos derivados da Vitamina A e na manutenção da função dos fotorreceptores. São as responsáveis pela reciclagem do *trans*-retinal para nova síntese de pigmento visual, bem como pela reciclagem de outras moléculas necessárias à contínua regeneração dos segmentos externos dos fotorreceptores (Ekestén, 2009) (Wolf, 2004)

^{‡‡} A membrana de Bruch separa o EPR da coriocapilar. É constituída por fibras elástica e de colagénio. Através dela atravessam os elementos metabólicos provenientes da coriocapilar.

Wilcock, em *Pathologic Basis of Veterinary Disease* (4th ed.), considera ser mais correcto integrar anatómica e funcionalmente o EPR como parte constituinte da coróide.

2.2 Fotorreceptores

A camada de fotorreceptores (2) é constituída pelo segmento externo dos cones e bastonetes e por processos das células de Müller. (Slatter, 2008)

2.3 Membrana Limitante Externa

A membrana limitante externa (3) é uma barreira formada pelas membranas celulares dos cones, bastonetes e células de Müller. (Slatter, 2008)

As células de Müller são células da glia que se estendem por toda a largura da retina, desde a membrana limitante externa até á membrana limitante interna. (Ekestén, 2009) São as maiores células da retina, funcionam como o seu “esqueleto” e os seus núcleos localizam-se na camada nuclear interna. (Slatter, 2008)

2.4 Camada Nuclear Externa

A camada nuclear externa (4) é formada pelos corpos celulares dos cones e bastonetes, fibras de conexão entre os fotorreceptores, axónios dos fotorreceptores e processos das células de Müller. A espessura desta camada da retina varia consoante a espécie. No cão apresenta cerca de 12 a 15 núcleos. Os núcleos dos cones que se encontram mais próximos da membrana limitante externa são grandes e ovais, eucromáticos e de coloração mais clara comparativamente ao núcleo dos bastonetes. (Peña, 2009)

2.5 Camada Plexiforme Externa

A camada plexiforme externa (5) é composta pelas terminações axónicas dos fotorreceptores (que são envolvidas pelo citoplasma das células de Müller), por células horizontais, bipolares e sinapses dendríticas. (Peña, 2009)

Na superfície interna da camada plexiforme externa as porções terminais dos axónios dos fotorreceptores dilatam-se para formar expansões que sinapsam com as células bipolares. (Slatter, 2008)

Os axónios dos bastonetes terminam em forma de pêra e apresentam uma ou mais invaginações com sinapses em banda. Os axónios dos cones formam grandes pedículos com numerosas invaginações. (Peña 2009)

2.6 Camada Nuclear Interna

Na camada nuclear interna (6) identificam-se quatro tipos de núcleos correspondentes aos seguintes neurónios:

- Neurónios de Associação: células bipolares; células horizontais; células amácrinas.
- Células da Neuróglia: células de Müller.

As células bipolares sinapsam com os fotorreceptores na camada plexiforme externa e transmitem sinais dos fotorreceptores ou das células horizontais para as células ganglionares. Aos processos dendríticos das células bipolares podem ligar-se fotorreceptores ou células horizontais (da camada plexiforme externa). Aos processos axonais ligam-se células ganglionares ou células amácrinas da camada plexiforme interna (7). (Peña, 2009)

As células bipolares classificam-se em *ON*, ou despolarizantes, e em *OFF*, ou hiperpolarizantes. Para cada célula *ON* convergem cerca de 15 a 30 bastonetes e as células *OFF* recebem os cones. (Ekesten, 2009)

As células horizontais são mais externas e estabelecem sinapses laterais entre fotorreceptores e células bipolares, modulando a sua actividade. (Jorge, 2009)

Existem uma ou mais classes de células horizontais, dependendo da espécie animal. No cão distinguem-se células horizontais do tipo L (luminoso) e C (cor). As células L hiperpolarizam na presença de luz e as C despolarizam ou hiperpolarizam dependendo do comprimento de onda do estímulo luminoso. (Ekesten, 2009)

As células amácrinas não apresentam axónios evidentes mas estão em sinapse com as células bipolares e ganglionares. Há cerca de 30 tipos diferentes de células amácrinas que se distinguem de acordo com o grau de estratificação das suas dendrites. (Ekesten, 2009)

São responsáveis pela integração horizontal de estímulos e inibição lateral das células ganglionares (Peña,2009), ajustando o *input* das células bipolares às células ganglionares. (Ekesten, 2009)

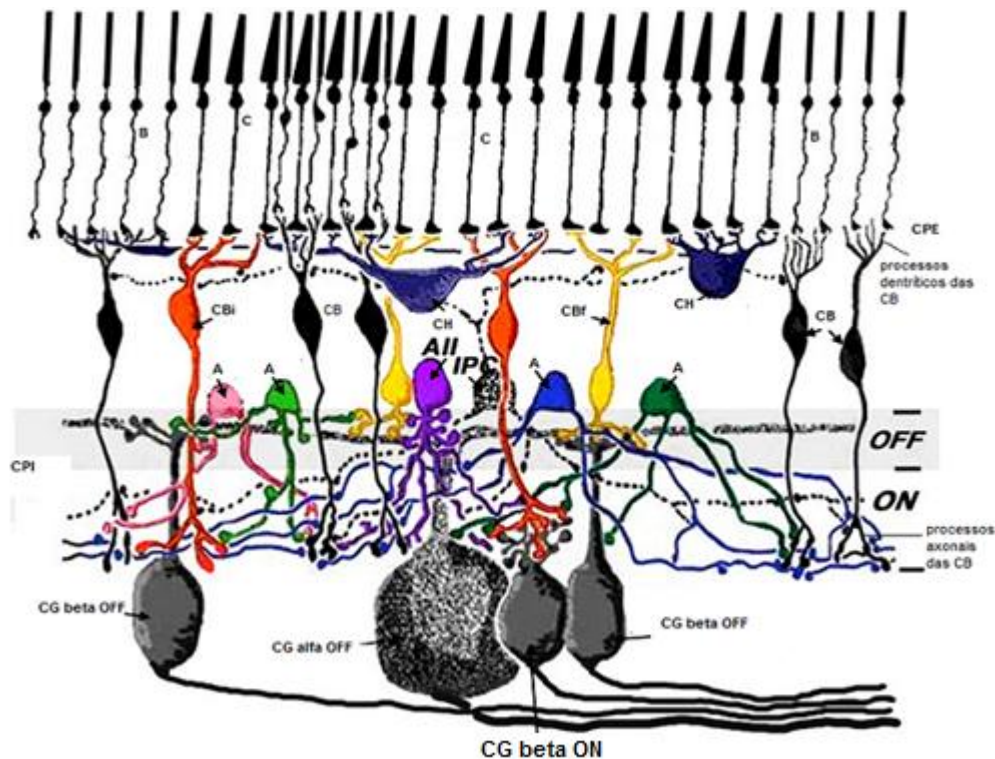
As células de Müller são astrócitos (células da Glia) que suportam os neurónios da retina e se estendem desde a camada limitante interna à camada nuclear externa. Desempenham, tal como as células da neuróglia, uma função de suporte aos diferentes elementos celulares e manutenção da integridade estrutural da retina.

Os núcleos das células de Müller estão na camada nuclear interna mas o seu citoplasma atravessa toda a retina. Dispõem-se de forma colunar desde a câmara vítrea do bulbo ocular, onde formam a membrana limitante interna, até à camada de fotorreceptores onde formam a membrana limitante externa. A sua particular topografia transforma estas células em elementos fundamentais na manutenção da integridade das estruturas da retina. Os seus prolongamentos

citoplasmáticos envolvem os axónios das células ganglionares e os vasos sanguíneos. (Hollander, Makarov, Dreher, Driel, Chan-Ling & Stone, 1991)

Os prolongamentos citoplasmáticos das células de Müller e dos astrócitos que revestem os vasos sanguíneos designam-se por pés vasculares. O contacto íntimo que se estabelece entre as células da neurógliã e as estruturas vasculares, associado à interposição dos pés vasculares destas células entre os vasos sanguíneos e o parênquima retiniano, explica o envolvimento das células de Müller e dos astrócitos no aporte de nutrientes e nos mecanismos de regulação das células neuronais retinianas. (Gardner *et al.* 2002; Newman, 2003; Antonetti *et al.* 2006 citados por Jorge, 2009, pag. 15)

Fig. 3 – Relações funcionais e estruturais entre as diferentes células da retina. (adaptado de Kolb, Fernandez & Nelson, 2003).



A – célula amácrina; B – bastonetes; C – cones; CB – célula bipolar; CG – célula ganglionar; CH – célula horizontal; CPI – camada plexiforme interna; CPE- camada plexiforme externa;

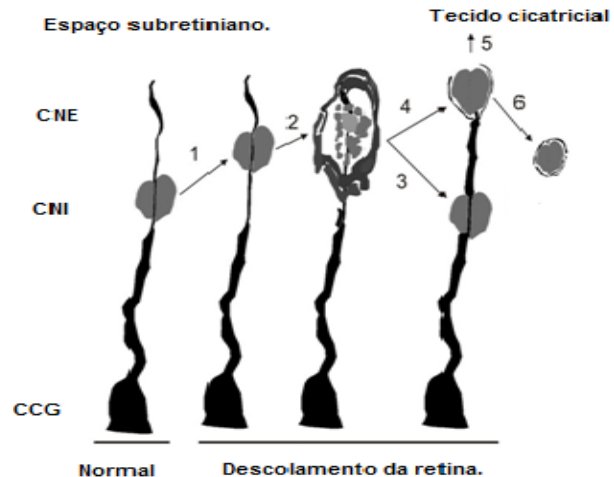
Em situações de agressão traumática e lesão da retina as células de Müller, á semelhança das células da Glia no Sistema Nervoso Central (SNC), são activadas para formar tecido de cicatrização glial. Lewis (2010) estudou o comportamento das células de Müller em situações de

descolamento da retina e concluiu que, como resultado da lesão, os núcleos das células de Müller migram para a camada nuclear externa da retina e sofrem mitoses.

Após o processo de divisão celular, **Fig. 4 - Retina normal do coelho.** (adaptado de Lewis et al., 2010)

forma-se uma célula binucleada. Um dos núcleos pode migrar de volta para a camada nuclear interna. O segundo, que permanece na camada nuclear externa, pode migrar para o espaço subretiniano (e formar tecido de cicatrização glial) ou mantém-se na retina e diferencia-se em células precursoras de células da retina. Estas podem, eventualmente, vir a repor fotorreceptores perdidos.

Um fenómeno semelhante foi descrito em 2003 por Fischer, após lesão ou exposição da retina de galinhas a factores de crescimento. Nesta espécie, as células de Müller diferenciam-se, proliferam e expressam factores de transcrição que se encontram normalmente em retinas embrionárias, podendo originar quer células da glia quer neurónios da retina. (Lewis, Chapin, Luna, Linberg & Fisher, 2010)



CNE e CNI - camada nuclear externa e interna, respectivamente;
CCG - camada de células ganglionares.

1 – migração do núcleo da célula de Müller para CNE após lesão retiniana; 2 – mitose e formação de célula binucleada; 3 – migração de um dos núcleos para CNI; 4 – migração do núcleo para o espaço subretiniano para formar tecido de cicatrização glial; 5 – o núcleo 4 permanece na retina e vai originar células precursoras de células da retina.

2.7 Camada Plexiforme Interna

A camada plexiforme interna (7) é composta pelos axónios das células bipolares, horizontais, amácrinas e pelas dendrites das células ganglionares. A este nível ocorrem sinapses no sentido vertical (entre as células bipolares e ganglionares) e lateral (entre as células horizontais e amácrinas e entre as células horizontais e ganglionares).

2.8 Células Ganglionares

A camada de células ganglionares (8) é formada pelos corpos celulares das células ganglionares (CG) e respectivas dendrites que sinapsam com os axónios das células bipolares da camada plexiforme interna precedente. Esta camada tem a espessura de uma única fiada de corpos celulares de CG. Para cada CG convergem várias células bipolares que, por sua vez, sinapsam com vários fotorreceptores. (Slatter, 2008)

Uma melhor resolução da visão em condições escotópicas requer que um maior número de fotorreceptores (sobretudo bastonetes) sinapsem numa única CG. Assim, retinas com grande poder de resolução têm uma grande densidade de fotorreceptores, um elevado rácio de fotorreceptores por CG e um grande número de CG e fibras do Nervo Óptico (NO). Isto tende, contudo, a que a acuidade visual seja menor. Por exemplo, o NO do Homem contém 1,2 milhões de fibras nervosas enquanto o NO canino contém 167 000. Nos primatas, ao nível da fóvea, verifica-se a relação de uma CG para cada cone. Nos gatos, na região da retina com maior capacidade de resolução, existem 4 cones para cada CG. Os cães são provavelmente semelhantes aos gatos neste aspecto, mas o rácio de cones e bastonetes para cada CG ainda não foi descrito para esta espécie. (Slatter, 2008)

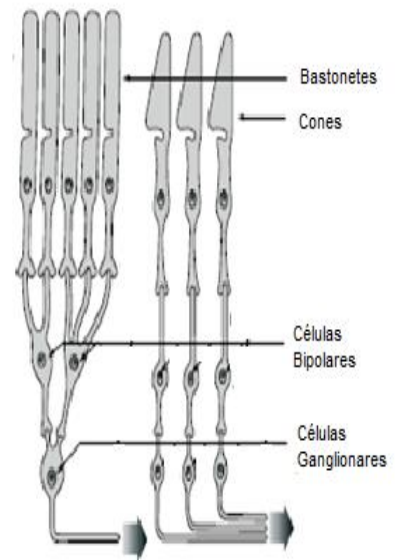
Distinguem-se 3 tipos de CG, de acordo com a morfologia dos seus axónios: as células ganglionares alfa (ou células Y), beta (ou células X) e gama (ou células W). (Peña, 2009)

Na maioria dos mamíferos as CG alfa são grandes, formam uma pequena percentagem das células da retina, têm poucas dendrites e encontram-se á periferia da retina. (Peña, 2009) (Peichl, 1992). As CG Beta são as mais pequenas e ramificadas, encontram-se em maior número e distribuem-se sobretudo pela área central e faixa visual da retina. As CG gama são pequenas e apresentam delgadas dendrites em número reduzido. (Peña, 2009)

Em 1967, Ragnar Granit e H. Keffer Hartline partilharam o prémio Nobel da Medicina e Fisiologia por terem sido pioneiros no registo dos potenciais eléctricos despoletados por células ganglionares individuais após estimulação luminosa da retina de animais vertebrados. (Nelson, 2001)

No ano de 1976, Rudolf Hebel publica em *Anatomy and Embryology* um dos primeiros estudos comparativos sobre a distribuição das CG na retina de cinco espécies de mamíferos diferentes (porco, ovelha, boi, cavalo e cão). Foram feitas preparações histológicas da totalidade da retina e contagens celulares para estabelecer mapas de distribuição das CG. A análise desses dados revelou que a distribuição das CG na retina dos animais das espécies mamíferas estudadas atinge uma densidade máxima na área central da retina. Esta região da retina foi identificada

Fig. 5 - Associações celulares entre fotorreceptores, células bipolares e células ganglionares. (Adaptado de Chaudieu e Molon-Noblot, 2004)



anteriormente como redonda ou oval na sua forma (*area rotunda* nos carnívoros e pequenos ruminantes) e nos primatas e macacos contém a fóvea central. No estudo apresentado por Hebel, o padrão geral de distribuição das CG revela uma conformidade significativa entre as diferentes espécies estudadas. Em todas foi identificada uma faixa horizontal de elevada densidade de CGs numa localização dorsal ao DO. Dorsal e ventralmente ao DO, em direcção à periferia da retina, verifica-se uma redução gradual na densidade de CG. Dentro da faixa horizontal de CGs a densidade celular relativa varia, mas na maioria das espécies regista-se uma concentração máxima de CGs perto do seu extremo temporal. (Hebel, 1976)

Nos canídeos a área central é irrigada dorsal e ventralmente por vasos sanguíneos com orientação horizontal, que se ramificam nas regiões de maior densidade celular. Nos pontos onde a compactação celular é maior não se encontram vasos sanguíneos de calibre superior a um capilar, e as fibras nervosas que chegam da periferia da faixa visual curvam-se ventralmente antes de se aproximarem do DO. (Hebel, 1976)

Dentro das áreas de densidade máxima de CG, a maioria dos neurónios tem um tamanho uniforme. Nas restantes porções da retina é característico encontrar uma variedade de tamanhos celulares. (Hebel, 1976)

As variações específicas encontradas para cada espécie estudada por Hebel e seus colaboradores estão relacionadas sobretudo com o tamanho da faixa visual e com o número relativo de CG dentro de áreas comparáveis da retina. Na retina dos canídeos localiza-se temporal e ligeiramente dorsal ao DO uma área oval de maior densidade de CG (>7,000 células/mm²), livre de vasos sanguíneos. Em alguns dos cães estudados verificou-se que, a partir da área oval onde a densidade ganglionar é máxima, ramifica-se um braço de elevada densidade de CG, linear, mais curto e estreito que a faixa visual, e que se estende em direcção temporal. Em todos os cães do estudo, verificou-se a existência de uma outra faixa de CG na porção nasal da retina, a 1 mm dorsalmente ao DO, com aproximadamente 9 milímetros (mm) de comprimento. (Hebel, 1976)

Peichl (1992) desenvolveu um estudo onde descreve a topografia da distribuição das CG na retina de cães (*Canis lupus f. familiaris*) de sete raças distintas e de oito lobos (*Canis lupus*). Com o seu trabalho concluiu que a retina dos cães de raças diferentes mostra variações na distribuição topográfica das CG, mas existe uma área central de maior densidade de CG que é comum a todas as raças. Esta região da retina, onde a densidade de CG é máxima, denomina-se área central (*area centralis*) e coincide com a porção da retina onde a acuidade visual é máxima. À periferia da retina a concentração de células ganglionares é menor.

Uma característica comum às oito retinas de lobo estudadas é a presença de uma faixa visual pronunciada constituída por um denso aglomerado de células ganglionares, com uma área central muito compacta, e com projecções de corredores de células para os cantos temporal e nasal da retina. Este padrão de distribuição das células ganglionares permite aos lobos ver o horizonte com uma acuidade visual relativamente elevada. Os lobos têm uma densidade máxima de células ganglionares na área central da retina de aproximadamente 12,000 a 14,000 CG/mm². (Peichl, 1992)

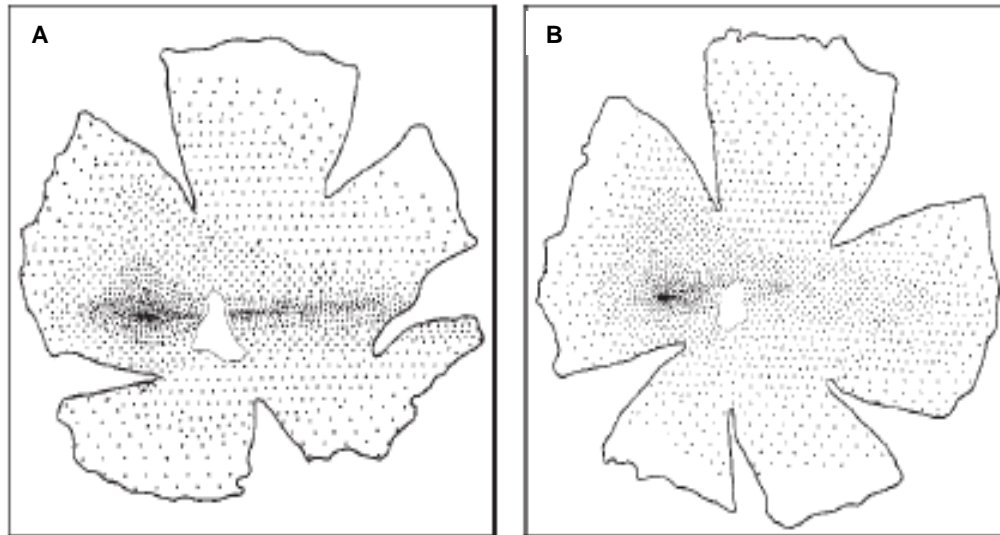
Nas sete raças de cães estudadas também foi possível identificar uma faixa visual para cada retina, contudo foram apontadas algumas características diferentes daquelas verificadas na retina do lobo. Através da análise da distribuição de CG na retina das diferentes raças de cães, Peichl (1992) concluiu que existe uma variação considerável na topografia da distribuição de CG entre diferentes raças e que indivíduos da mesma raça podem apresentar expressões variáveis da faixa visual (justificáveis pelas diferenças do *pool* genético que se verifica mesmo dentro da mesma raça).

Peichl (1992) classifica a distribuição das CG pela retina em dois grupos distintos:

- o daqueles indivíduos com uma faixa visual pronunciada (semelhante à observada nos lobos) e com uma projecção de elevada densidade de CG desde a área central em direcção horizontal para a região temporal da retina.
- o daqueles indivíduos com uma faixa visual moderada, mais pequena e com uma densidade de CG que diminui à medida que estas se dispersam da área central em direcção à periferia temporal.

A densidade máxima de CG na área central da retina do cão varia entre 6,400 a 14,400 CG/mm². (Peichl, 1992).

Comparando estes valores com aqueles descritos para a retina do lobo, podemos esperar que a acuidade visual naqueles animais seja melhor que a do cão e que a constância na forma da faixa visual entre os diferentes indivíduos da espécie *Canis lupus* seja reflexo da pressão de selecção natural. Contrariamente, a variabilidade encontrada nas diferentes raças de cães domesticados pode resultar de programas de selecção criados pelo Homem que aplicam pouca ou nenhuma pressão de selecção no sentido de maximizar a performance visual. (Slatter. 2008) Em *Topography of Ganglion Cells in the Dog and Wolf Retina*, Peichl (1992) refere que um achado comum à retina do cão e do lobo é a densidade máxima de células alfa na área central da retina e a ausência destas mesmas células numa porção considerável da periferia da região temporal da retina. Esta característica não foi ainda evidenciada em outras espécies mamíferas.

Fig. 6 - Diagrama de distribuição de CG pela retina. (adaptado de Peichl, 1992, e de Slatter, 2008)

A. Pastor Alemão, com distribuição das CG em faixa visual muito semelhante à do lobo;

B. Beagle com faixa visual menos pronunciada.

A distribuição diferencial dos pontos reflecte a distribuição das CG pela retina; região central de forma irregular corresponde ao DO onde as CG não são visíveis por aposição de uma grossa camada de tecido nervoso.

Vimos que no cão e nos mamíferos em geral, os cones e bastonetes são as principais células responsáveis pela detecção de luz e dependem das CG para transmitir essa informação ao cérebro, através de uma via multissináptica complexa. Acontece que estes *outputs* da retina, além de suportarem a visão no seu sentido comum, suportam também um conjunto de respostas e funções fotópicas não visuais. Estas funções não conduzem à discriminação de cores e formas mas intervêm na regulação do ciclo circadiano, respostas comportamentais á luz, reflexo pupilar á luz (RPL), síntese de melatonina pela Hipófise e sonolência. (adaptado de Güller, e tal., 2008, e de Panda e tal., 2005).

Nos mamíferos, as funções visuais que ultrapassam a formação de imagens estão dependentes dos cones, bastonetes e de um tipo particular de células ganglionares: células ganglionares retinianas intrínsecamente fotossensíveis (CGRif) que expressam a melanopsina (Opn4). (adaptado de Güller et al., 2008, e de Panda e tal., 2005).

Estas células enviam projecções monossinápticas para o núcleo supraquiasmático do hipotálamo^{SS} (centro de regulação do ritmo circadiano), braços conjuntivos do mesencéfalo e para o núcleo olival da área prétectal ou *pretectum* (responsável pelo RPL). (Güller et al., 2008) A melanopsina (Opn4) é uma proteína da família das Opsinas que participa na mediação das respostas fotópicas não visuais atrás descritas e é fundamental para a função da camada

^{SS} tracto retino-hipotalâmico

interna da retina. Contudo, a forma precisa como gera uma resposta na presença de um estímulo luminoso ainda não foi descrita. (Panda et al., 2005)

No estudo de Panda e colaboradores (2005), em oócitos de indivíduos do género *Xenopus* (rã), conclui-se que a expressão da melanopsina resulta na activação de correntes de membrana dependentes da luz pela via das proteínas G.

A acção dos fotorreceptores (cones e bastonetes) é complementar á das CGRif na sinalização da intensidade luminosa para a formação das funções não visuais. As CGRif, além de serem directamente fotossensíveis, também recebem *inputs* sinápticos dos cones e bastonetes. (Güller et al., 2008)

A fim de determinar a importância dos cones e bastonetes para o desempenho das CGRif nas diversas funções visuais, Güler e colaboradores (2008) elaboraram um estudo onde foram criados ratinhos geneticamente modificados com ablação do gene que codifica as CGRif. Os animais sem CGRif mantêm a visão mas apresentam um déficite de regulação do ciclo circadiano e no reflexo pupilar á luz (comparativamente mais severo que aqueles descritos por outros autores em estudos com ratinhos *knockout* para a melanopsina e referidos nesta publicação).

Em ratinhos *knockout* para a melanopsina as CGRif, que normalmente expressam esta opina, perdem a sua capacidade fotossensível. Contudo, mantêm atenuados os RPL e as respostas á luz no ciclo circadiano (indicando que os cones e bastonetes são capazes de detectar luz para funções visuais que não envolvem a formação de imagens). É dado adquirido que os sinais captados pelos cones e bastonetes para o desenvolvimento de funções visuais sem formação de imagem dependem das CG para chegar ao SNC. Contudo não é claro se este fenómeno é da responsabilidade das CG, das CGRif ou de ambas. (Güller et al., 2008)

2.9 Fibras do Nervo Óptico (NO)

Os axónios das CG formam conjuntos de fibras nervosas que constituem a camada de fibras do nervo óptico ou segundo par craniano (9). Estas atravessam-se paralelamente à superfície retiniana do DO e saem agrupadas no pólo posterior do globo ocular através da lâmina crivosa, onde são mielinizadas para formar o NO. (Slatter, 2008)

No cão, a mielina que envolve o DO estende-se alguns milímetros anteriormente à lâmina crivosa, formando uma proeminência do disco. Como o NO é, mais propriamente, uma extensão do cérebro do que um verdadeiro nervo periférico, a mielina que o envolve provém dos oligodendrócitos em vez das células de Schwann. (Wilcock, 2007)

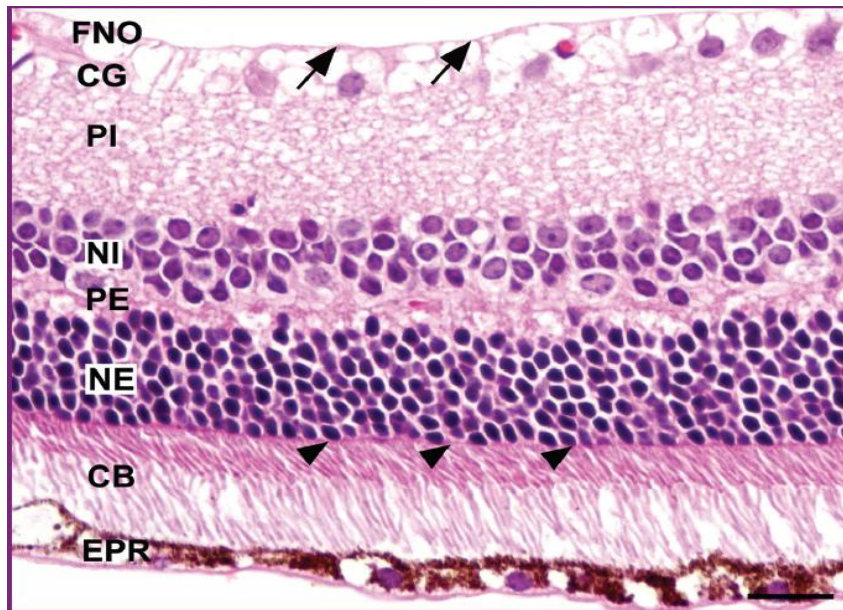
As fibras do NO podem ser classificadas em cinco classes diferentes, com base no tipo de resposta das CG. Algumas fibras respondem apenas ao início da estimulação luminosa e são chamadas *on fibers*. Outras permanecem inactivas e respondem apenas quando o estímulo luminoso cessa: *off fibers*. Há ainda fibras que respondem apenas ao início ou fim do estímulo luminoso e denominam-se *on – off fibers*. A resposta destas estruturas ao movimento de um objecto linear detectado pela retina é exuberante e por esse motivo podem ser igualmente denominadas detectores de objectos lineares em movimento. (Schmidt-Nielsen, 1998)

Também existem fibras que respondem à presença de objectos com bordos bem definidos no campo visual, quer estejam em movimento quer se encontrem parados. Estas fibras do nervo óptico (denominadas por *edge receptors*) são distintas das fibras *on – off*. Por último ficam as fibras que detectam somente objectos pequenos e negros em movimento e que se denominam *bug detectors*. As duas últimas categorias de fibras não reagem a alterações da intensidade luminosa, portanto ligar e desligar a luz não afecta a condução destas fibras nervosas. (Schmidt-Nielsen, 1998)

2.10 Membrana Limitante Interna

A membrana limitante interna (10) é a camada mais interna da retina e separa-a do corpo vítreo. É uma membrana basal onde se ligam as extremidades das células de Müller (Slatter, 2008) e há contacto com o humor vítreo. (Wilcock, 2007) É vascularizada e os vasos sanguíneos entram no globo ocular juntamente com o NO. Estes são responsáveis pela nutrição desta porção da retina, contrariamente ao observado na camada nuclear externa onde fotorreceptores e EPR estão totalmente dependentes da difusão de nutrientes da coróide para assegurar o seu metabolismo. Consequentemente, quando há separação da camada mais interna da retina do EPR, tal como ocorre numa situação de descolamento da retina, verifica-se isquémia e degenerescência dos fotorreceptores e, eventualmente, da camada nuclear externa. (Wilcock, 2007)

Fig. 7 - Constituição histologia da retina: corte histológico da retina com coloração de hematoxilina-eosina; barra 23 µm. Imagem de Jorge (2009), gentilmente cedida pela Prof. Maria Luisa Mendes-Jorge, FMV-UTL.



É possível observar a disposição das diferentes camadas da retina. Setas: membrana limitante interna; FNO: camada de fibras do NO; CG: células ganglionares; PI: camada plexiforme interna; NI: camada nuclear interna; PE: camada plexiforme externa; NE: camada nuclear externa; CB: camada de cones e bastonetes; EPR: epitélio pigmentar da retina;

3. TOPOGRAFIA DO FUNDO DO OLHO

Macroscopicamente a retina assemelha-se a uma membrana ligeiramente opaca e vascularizada que se encontra suportada por pressão do humor vítreo contra o EPR, coróide e esclera. Na realidade, a neuroretina não se encontra fixa ao EPR e á coróide, excepto ao nível do DO e á periferia, onde se encontra em continuidade com o epitélio da *pars plana* do corpo ciliar (*ora ciliaris retinae*). (Wilcock, 2007)

Em Medicina Veterinária a oftalmoscopia, quer directa quer indirecta, é a técnica mais utilizada para observar o fundo do olho através da abertura pupilar.

Devido à grande diversidade do seu aspecto oftalmoscópico normal, a observação por oftalmoscopia do fundo do olho dos canídeos pode ser um desafio. Ao considerar a diversidade de aspectos fenotípicos das diferentes raças de cães, pode-se esperar uma ampla variedade de aspectos do fundo ocular normal. Algumas características do fundo ocular estão relacionadas com propriedades fenotípicas do cão, por exemplo, a cor da íris ou a cor do pêlo, mas também variam consideravelmente com a idade (durante os primeiros 3 a 4 meses de vida o cachorro apresenta alterações evidentes na cor do fundo do olho) (Gelatt, 2007)

A imagem obtida por oftalmoscopia directa do fundo do olho resulta da combinação da observação da retina, EPR, coróide e tapete. (Wilcock, 2007)

Para conveniência do observador, o fundo do olho divide-se regionalmente em: fundo tapetal e fundo não tapetal, disco óptico e vascularização da retina. (Gelatt, 2007)

3.1 Fundo tapetal ou tapete lúcido (*tapetum lucidum*)

O tapete lúcido é uma modificação da coróide localizada entre o EPR e a membrana coriocapilar (Bedford, 2009) que se encontra completamente desenvolvido às 16 semanas de idade. (Gelatt, 2007)

A combinação do tapete lúcido (região avascular da coróide) e a ausência de epitélio pigmentado nesta porção da retina é a base anatómica para o fundo tapetal, que forma uma área praticamente triangular com uma base horizontal na metade dorsal do fundo do olho por cima do DO. (Jacobs, Deegan, Crognale, & Fenwick, 1993) (Gelatt, 2007)

Esta porção da retina deve ser brilhante, colorida e reflectir a luz. O tamanho do fundo tapetal varia notavelmente entre cães. (Gelatt, 2007)

O fundo tapetal é geralmente grande e pode circundar o DO nos cães de raça apurada para caçar com base na visualização da presa, tais como os Hounds (ex. Greyhound) ou raças de grande porte. Nas raças miniatura (Ex. Pappillon) o fundo tapetal é pequeno, ocupando uma pequena área do fundo ocular, geralmente temporal e dorsal ao DO. Nas raças de cães com pelagem tipo *merle* (destaca-se o Collie Azul Merle e o Pastor de Shetland) o fundo tapetal pode estar ausente (é subalbinótico). (Gelatt, 2007)

A cor normal do tapete varia entre o verde, azul, amarelo e laranja, dependendo da espécie, raça e idade do animal. Uma combinação de cores frequente é um fundo tapetal maioritariamente amarelo que adquire tons de verde e finalmente azul na junção com o fundo não tapetal. Não se verifica qualquer relação entre o padrão de cores do fundo tapetal e determinada raça. Diferentes indivíduos da mesma raça podem exibir variadas cores tapetais, não havendo uma relação concreta entre a cor do pêlo e a cor do fundo tapetal. (Gelatt, 2007)

Segundo Miller em *Vision in Dogs* (1995) a variedade de cores observada por oftalmoscopia do fundo do olho depende da interacção diferencial da luz incidente com a estrutura celular do fundo tapetal e não da cor ou composição espectral inerente dos pigmentos celulares.

As células que compõem o fundo tapetal estão altamente organizadas e contêm zinco e riboflavina. Desta combinação resulta a capacidade reflectiva do tapete. Em situações patológicas que conduzem á diminuição da espessura da porção da retina que cobre o tapete,

como acontece por exemplo na degenerescência da retina, verifica-se hiperreflectividade tapetal. (adaptado de Bedford, 2009)

Os vasos da retina que atravessam o *tapetum lucidum* são mais facilmente visualizados por oftalmoscopia nesta porção do fundo ocular, comparativamente ao fundo não tapetal. (Gelatt, 2007)

3.2 Fundo não tapetal (*tapetum nigrum*)

Compreende a área de maior tamanho do fundo ocular do cão. A região de transição do fundo tapetal para o fundo não tapetal pode ser demarcada por uma linha definida ou ser gradual e contínua, com focos disseminados de células tapetais que se vão tornando cada vez mais dispersas. (Gelatt, 2007)

O fundo não tapetal é uma superfície não reflectiva e habitualmente escura, de cor cinzenta, castanha ou negra. Em determinadas ocasiões, e quando observado por oftalmoscopia, os vasos da coróide podem dar um aspecto raiado ou tigrado ao fundo não tapetal. (Gelatt, 2007)

Cães com fundo do olho subalbinótico podem apresentar partes do fundo não tapetal sem pigmento, expondo os vasos da coróide que se tornam sobre-expostos por aposição à esclerótica branca. A ausência de pigmento em toda a região não tapetal é frequente, por exemplo, no Collie de pelagem azul. (Gelatt, 2007)

Tipicamente, na porção superior da retina incide menos radiação luminosa (apenas aquele reflectida pelo solo, escuro) e sobre a porção inferior da retina incide mais luz, vinda do céu luminoso. No cão, a localização do tapete lúcido na porção superior da retina aumenta a capacidade destes animais para detectarem objectos em situações de fraca luminosidade porque permite reflectir uma segunda vez sobre a retina a radiação de luz que já a atravessou, aumentando a probabilidade dos fotorreceptores serem sensibilizados por um fotão. (Miller & Murphy, 1995)

O ajustamento reflexo do diâmetro pupilar (provavelmente um mecanismo de sensibilidade regional dos bastonetes) e o recrutamento de cones (adaptados às condições fotópicas) melhoram a performance visual num ambiente de intensa luminosidade. Foi sugerido que as células amácrinas da retina, que fazem a ponte entre as porções superior e inferior da retina, colaboram para equilibrar as diferenças de luminosidade incidente sobre as diferentes porções da retina. (Miller & Murphy, 1995)

3.3 Disco do nervo óptico ou papila do nervo óptico

No cão, o disco ou papila do nervo óptico (NO) também apresenta uma ampla variabilidade quanto ao seu aspecto oftalmoscópico normal. Localiza-se no centro do fundo ocular, algumas vezes no fundo tapetal, outras no fundo não tapetal. O grau de mielinização afecta o tamanho do diâmetro do disco óptico, que é mais pequeno nos cachorros por apresentarem uma mielinização incompleta do DO. Existe algum grau de variação do tamanho do DO entre indivíduos e entre raças mas não se verifica uma relação estreita entre o tamanho do DO e o tamanho do cão. (Gelatt, 2007)

A sua forma pode ser redonda, triangular ou poligonal e os seus bordos, em determinadas condições, podem ser abaulados. Em cães adultos a superfície anterior do DO está em relevo, comparativamente à porção da retina que o circunda. A cor do DO varia do branco rosado ao rosa forte, dependendo da extensão da vasculatura visível. O trajecto dos vasos sanguíneos é um ponto de referência útil quando se pretende determinar a topografia da papila do DO. A região do fundo ocular que rodeia o disco óptico pode apresentar-se como um anel parcial ou completo com ausência focal de tecido tapetal. (Gelatt, 2007)

3.4 Vascularização do fundo tapetal

A irrigação arterial do olho é assegurada sobretudo pela artéria oftálmica externa, um ramo da artéria maxilar interna que deriva, por sua vez, da carótida externa. Comparativamente à situação verificada em Humanos e primatas, a contribuição da carótida interna para a irrigação do olho do cão é pequena e resume-se à artéria oftálmica interna que entra no globo ocular através do canal óptico, juntamente com o NO. Nas espécies domésticas, onde se inclui o cão, a partir da artéria oftálmica externa ramificam-se numerosas pequenas artérias ciliares posteriores que penetram a esclera em redor do DO. Estas são as artérias que vão irrigar a coroide e a retina. A drenagem venosa é assegurada pelas veias e vénulas da retina que correm desde a periferia em direcção ao DO, onde formam um círculo venoso que pode ser completo ou incompleto no cão. (Slatter, 2008).

A nutrição e oxigenação dos elementos mais externos da retina, e dos fotorreceptores em particular, são asseguradas pela vascularização coroideia. A vascularização própria da retina assegura a nutrição e oxigenação das suas camadas mais internas. Verificam-se diferenças ao nível do endotélio dos dois tipos de vasos: o endotélio dos vasos da coróide é fenestrado e o dos vasos da retina é contínuo. É ao nível dos vasos da retina que se localiza a barreira hematoretiniana interna. As barreiras hematoretinianas interna e externa impedem o transporte passivo dos elementos nutritivos através dos espaços intercelulares. Os capilares da retina

cumprem um papel (tal como as células do EPR) na eliminação activa do potássio. (Laboratório Lve Sudamerica S.A; informe 52)

A arquitectura vascular da retina do cão classifica-se como sendo do tipo Holangiótico porque a retina é vascularizada directamente a partir de uma artéria central ou artérias de menor calibre que emergem como um ramo único ou várias ramificações em redor do DO. (Slatter, 2008)

Os vasos do fundo ocular, observáveis por oftalmoscopia, são arteríolas cilioretinianas e veias à superfície da retina. As arteríolas (habitualmente em número de 15 e 20 no cão) têm uma distribuição radial excêntrica a partir da sua origem, em redor do DO. Apresentam uma cor mais clara comparativamente às vénulas e podem ser mais tortuosas que estas. Em situações de atrofia hereditária da retina, as artérias são os primeiros vasos a sofrer atrofia e redução de calibre. (Slatter, 2008)

As principais veias são de maior calibre e geralmente em número de três. Apresentam uma cor vermelha mais escura comparativamente às arteríolas. Nos cães as vénulas terminam muitas vezes num círculo venoso incompleto por cima do disco óptico, mas também se podem encontrar cobertas parcialmente por tecido do DO. Sobre o fundo óptico é visível uma ramificação arboriforme de vasos que resulta da coalescência de várias vénulas com veias de maior calibre. (Gelatt, 2007)

Na região dorsal e temporal ao DO existe uma área central de contornos mal definidos e desprovida de vasos sanguíneos, mas rodeada por pequenas ramificações destes, onde a concentração de cones é superior comparativamente ao resto da retina. (Gelatt, 2007)

4. ELECTROFISIOLOGIA OCULAR

Há cerca de dois milénios, Aristóteles (384 a.C – 322 a.C) afirmou que “nada está na mente que não tenha passado pelos sentidos”, reconhecendo que a percepção de que os órgãos dos sentidos são a única via de comunicação entre o mundo exterior e o sistema nervoso. Contudo, compreender como é que a informação ambiental é convertida em sinais nervosos e como é que estes sinais são depois captados e interpretados pelos órgãos do sistema nervoso é ainda hoje um desafio para a Ciência e para o Pensamento.

O fenómeno de sensação tem início em receptores específicos localizados na membrana celular de células sensoriais de determinado órgão dos sentidos. A forma de energia para a qual cada receptor é mais sensível é a sua modalidade sensorial. (Chaudieu & Molon-Noblot, 2004)

É da responsabilidade das células sensoriais captar e transformar um estímulo energético num impulso nervoso, capaz de ser reconhecido e interpretado pelo sistema nervoso. Este fenómeno biológico chama-se Transdução. (Chaudieu & Molon-Noblot, 2004)

Há duas características gerais comuns aos receptores das células sensoriais: cada receptor é altamente selectivo para um determinado estímulo e cada receptor tem capacidade de ampliar o sinal que recebe. As células sensoriais são selectivas porque as estruturas da sua membrana responsáveis pela captação das variações do exterior são diferenciadas e respondem de forma específica e adaptada a cada estímulo ambiental. (Chaudieu & Molon-Noblot, 2004)

A maioria dos organismos tem, de alguma forma, capacidade de responder á luz. O fenómeno de Fototransdução Visual consiste na absorção de um sinal luminoso por uma proteína fotossensível e na sua conversão e ampliação num sinal electrofisiológico, transmissível ao sistema nervoso central (SNC). (Chaudieu & Molon-Noblot, 2004)

Nos mamíferos, os olhos são os órgãos fotorreceptores e contêm, ao nível da retina, as células responsáveis pela captação dos estímulos luminosos e consequente transmissão dessa informação ao SNC.

Apesar da morfologia do olho variar grandemente entre espécies diferentes, o fenómeno de fototransdução é comum entre elas e baseia-se no funcionamento de proteínas altamente selectivas e conservadas que se localizam na superfície da membrana celular dos fotorreceptoras e são responsáveis pela captação de fotões de luz e transmissão de um estímulo luminoso à respectiva célula fotorreceptora. (Slatter, 2008)

Distinguem-se nos canídeos e em outras espécies mamíferas dois tipos de células fotorreceptoras: os cones e os bastonetes. Esta distinção é feita com base nas características morfológicas e electrofisiológicas destas células.

O cão, à semelhança da maioria dos animais domesticados e à excepção dos pássaros, não apresenta *fóvea* (pequena região avascular da retina dos primatas, muito rica em cones e responsável pela acuidade visual). (Slatter, 2008)

4.1 Propriedades das células fotorreceptoras: cones e bastonetes

Todos os neurónios que compoem a retina, bem como as células do EPR, contribuem para a resposta do organismo aos estímulos luminosos. Contudo, os cones e os bastonetes têm características fisiológicas diferentes das restantes células que constituem a retina. Os cones são mais sensíveis á luz intensa (visão fotópica) e permitem uma melhor resolução da imagem. Os bastonetes são mais sensíveis no crepúsculo (visão escotópica). Na grande maioria das espécies de mamíferos, nas quais se incluem os canídeos, os cones intervêm na visão a cores

e os bastonetes, por terem maior sensibilidade á luz, medeiam apenas a visão acromática. (Eckert, Randal, Burggren & French, 1998)

Pavlov concluiu, no início do século XX, que a habilidade dos cães para analisar a intensidade da radiação de fraca luminosidade está tão bem desenvolvida que o Homem é incapaz de determinar os seus limites utilizando puramente os seus sentidos. (Miller & Murphy, 1995)

Os fotorreceptores distinguem-se essencialmente por duas características: o comprimento de onda máximo da radiação a que os seus fotopigmentos são sensíveis (espectro de sensibilidade) e o intervalo de intensidade luminosa detectado pelos fotorreceptores (sensibilidade á luz). Chama-se “pico de absorção máxima” ao comprimento de onda de determinada radiação para o qual a absorção por um fotopigmento é máxima. (Slatter, 2008)

Diesem (1975), afirmou que os cones representam até 5% do número total de fotorreceptores nos cães, mas este valor é inconcebível quando comparado com observações mais detalhadas. Parry (1953) estudou os cones na área central da retina de vários cães e estimou que estes constituem cerca de 20% do total de fotorreceptores, considerando significativo o facto de a densidade de cones ser notavelmente constante na região que constituiu a retina central. Em estudos semelhantes, Koch & Rubin (1972) documentam uma redução no *rácio* cones/bastonetes nas regiões periféricas à area central da retina. (citado por Jacobs, Deegan, Crognale & Fenwick, 1993)

No trabalho de Jacobs, Deegan, Crognale & Fenwick (1993) é feita referência ao estudo de Lloyd que em 1980, à semelhança de Peichl em 1991, descreve que os cones perfazem até 3% de todos os fotorreceptores da retina dos cães e lobos e vem afirmar, mas sem factos que o documentem, que na retina da raposa a área central tem maior proporção de cones que de bastonetes. Nesta publicação, Jacobs e seus colaboradores (1993) procuraram determinar o número de diferentes tipos de fotopigmentos através de técnicas de electroretinografia (ERG) por fotometria *flicker* em representantes de quatro espécies do género *Canidae*: cão doméstico, raposa vermelha, raposa cinzenta da Islândia e raposa do Ártico. As condições ambientais foram manipuladas por forma a minimizar a contribuição dos bastonetes e dos cones sensíveis à luz de comprimento de onda curto a fim de estabelecer funções fotométricas para avaliar a sensibilidade espectral dos cones. Na electroretinografia foram utilizados impulsos luminosos de comprimentos de onda pertencentes a um intervalo espectral entre os 430 – 650 nanómetros (nm) e disparados a intervalos de 10 nm com uma frequência de 50Hz. Concluíram que, para todas as espécies estudadas e com variações individuais mínimas, o pico máximo de sensibilidade dos cones ocorre na região dos 550-560 nm e verifica-se um decréscimo de sensibilidade no sentido das radiações de maior e menor comprimento de onda do espectro

visível. A sensibilidade espectral destes canídeos não varia quando a frequência entre disparos de luz (*flicker*) excede os 50Hz. (Jacobs, Deegan, Crognale & Fenwick, 1993)

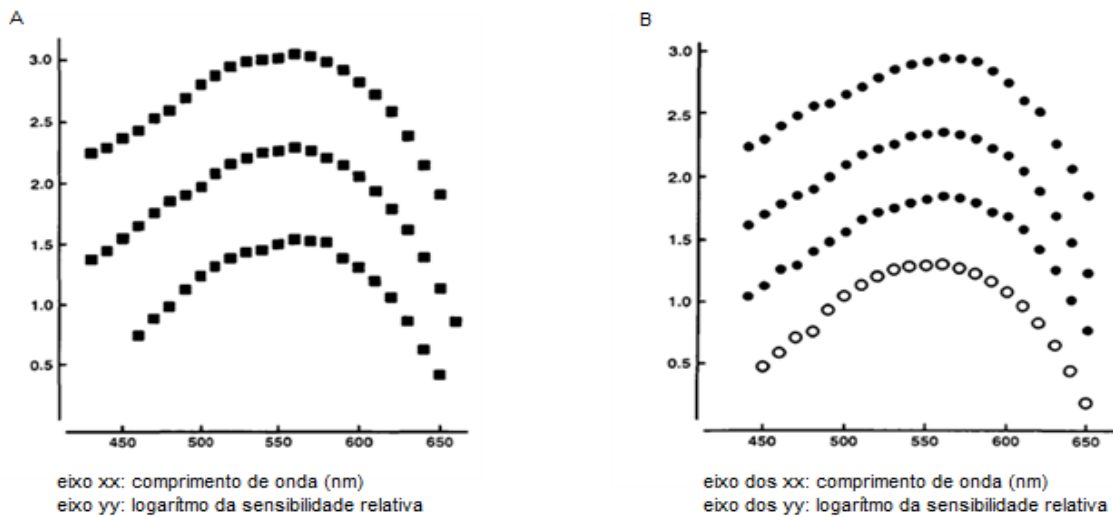
O segundo objectivo deste estudo prende-se com o número e variedade de cones existentes para a absorção de luz de comprimentos de onda médios a longos. Para comprovar a existência de um ou mais tipos de cones com absorvâncias máximas para radiação de comprimentos de onda médios a longos foi estabelecida uma equação fotométrica com base no ERG *flicker*. A luz *flicker* tinha entre os 540nm e 630 nm de comprimentos de onda e uma frequência de 50Hz. As equações foram formuladas enquanto os olhos estavam adaptados à luz de comprimentos de onda de 630nm ou 540nm. Nestas condições, para o ERG contribuiu apenas um fotopigmento que respondeu, em todos os animais e com mínimas variações individuais, a fotões de comprimento de onda de 555 nm^{***}. A sensibilidade espectral medida nestas condições suporta a ideia de que existe apenas um cone adaptado à captação de luz de médio a elevado comprimento de onda. (Jacobs, Deegan, Crognale & Fenwick, 1993)

Um segundo mecanismo fotópico foi identificado com um máximo de sensibilidade para luz de baixo comprimento de onda. Nos cães e nas raposas cinzentas registaram-se ondas de ERG com um pico máximo de absorção para fotões de comprimento de onda de 431 nm (cães) e 432 nm (raposa cinzenta). Nas raposas vermelhas a absorção máxima ocorreu a um comprimento de onda de 438 nm. (Jacobs, Deegan, Crognale & Fenwick, 1993)

Em condições escotópicas, procurando maximizar a participação dos bastonetes, foram registados, a partir de dois cães distintos, dois valores muito próximos para a absorção máxima dos bastonetes. Estes valores foram de 507 e 509 nm e estão em concordância com aqueles já descritos por Scheibner & Schmidt (em 1969) de 507 nm, e por Parkes (em 1982) que estimou um pico de absorção máxima de 506 nm para os bastonetes de vários exemplares de diferentes raças de cães. (citado por Jacobs, Deegan, Crognale & Fenwick, 1993)

Com este contributo de Jacobs e colaboradores podemos concluir que existe, em todas as espécies de canídeos estudadas, um único pigmento nos cones com absorção máxima na gama de radiação electromagnética de médio a elevado comprimento de onda (pico de 555 nm) e um segundo fotopigmento dos cones que absorve radiação de pequeno comprimento de onda (valor máximo de 431 nm). Os bastonetes têm a sua sensibilidade espectral máxima na radiação de comprimento de onda entre os 507 e 509 nm. Este padrão sugere que todos os canídeos possuem um sistema de visão dicromática muito semelhante.

^{***} média dos valores obtidos nos indivíduos dos 4 géneros de canídeos

Fig. 8 - Sensibilidade fotométrica em canídeos. (Adaptado de Jacobs, Deegan, Crognale & Fenwick, 1993)

A. *flicker* 50Hz; função da sensibilidade fotométrica espectral obtida em 2 cães.

B. *flicker* 50Hz; função da sensibilidade fotométrica espectral obtida em 3 raposas (pontos) e 1 raposa do Ártico (círculos).

A capacidade de captar energia luminosa e o movimento são geralmente entendidos como aspectos fundamentais da visão. Contudo, outros factores tais como a perspectiva visual, campo de visão, percepção da profundidade, acuidade visual e a capacidade de distinguir cores e formas desempenham um papel fundamental na forma como os animais vêem. O sistema visual dos cães evoluiu no sentido de se adaptar a um determinado nicho ecológico, desenvolvendo a sua habilidade de ver sob condições de crepúsculo e ao mesmo tempo sob condições de luminosidade. Assim, a visão nos cães não se encontra plenamente adaptada às condições de luminosidade intensa (diurnas) ou fraca (nocturnas), mas sim evoluiu no sentido de se adaptar a condições fotópicas variáveis. (Miller & Murphy, 1995)

Tabela 2 - Resumo das características electrofisiológicas dos fotopigmentos.

Bastonetes	Cones
Aproximadamente 10^8	Aproximadamente 6×10^6
Activados por 1 - 5 fotões (sensíveis no crepúsculo)	Activados por 1 000 fotões (sensíveis durante o dia)
Saturação com luz de fundo de 10^1 cd/m ²	Toleram luz de fundo até 10^3 cd/m ² de intensidade
Hiperpolarizam na presença de luz	Hiperpolarizam na presença de luz
Absorção máxima de luz de 507 a 509 nm	Absorção máxima de luz de 431 e 550 nm.
Resposta lenta	Resposta rápida
Sem resposta ao <i>flicker</i>	Resposta ao <i>flicker</i> de 70 a 80Hz

4.2 Anatomia das Células Fotorreceptoras

A diversidade de células fotorreceptoras é crucial para a discriminação das cores e detecção de luz de intensidades variáveis.

A organização intracelular das células fotorreceptoras é semelhante entre as diferentes espécies mamíferas. Nos fotorreceptores distinguem-se dois compartimentos: o segmento externo e o segmento interno. (Young, 1976)

A ligar estas duas estruturas existe um cílio oco que é o único canal de suporte e comunicação entre os dois segmentos celulares. O segmento externo está envolvido pela membrana celular externa do fotorreceptor e consiste numa pilha densa de estruturas em forma de disco constituídas por uma dupla membrana celular, onde estão alojados os pigmentos visuais (Young, 1976): proteínas com capacidade de absorção de fotões dentro do espectro de luz visível e responsáveis pelos fenómenos de excitação visual. (Slatter, 2008)

Em redor da base do cílio existe um denso agrupado de mitocôndrias (o elipsóide). Na porção mioide do segmento interno (metabolicamente activa, onde ocorre a actividade celular) existem ribossomas livres e ligados á membrana celular, complexos de Golgi e uma variedade de vesículas e vacúolos. O núcleo está ligado à base do mioide ou ao longo do segmento interno da célula. (Young, 1976)

A porção terminal da célula fotorreceptora é mais fina, constituída sobretudo por microtúbulos e termina numa sinapse. (Young, 1976)

Fig. 9 - Detalhe dos fotorreceptores (cones e bastonetes). Imagem obtida por microscopia electrónica de varredura sobre tecido intacto. Barra: 6 µm. SE: segmento externo; SI: segmento interno. Imagem de Jorge (2009), gentilmente cedida pela Prof. Maria Luisa Mendes-Jorge, FMV-UTL.

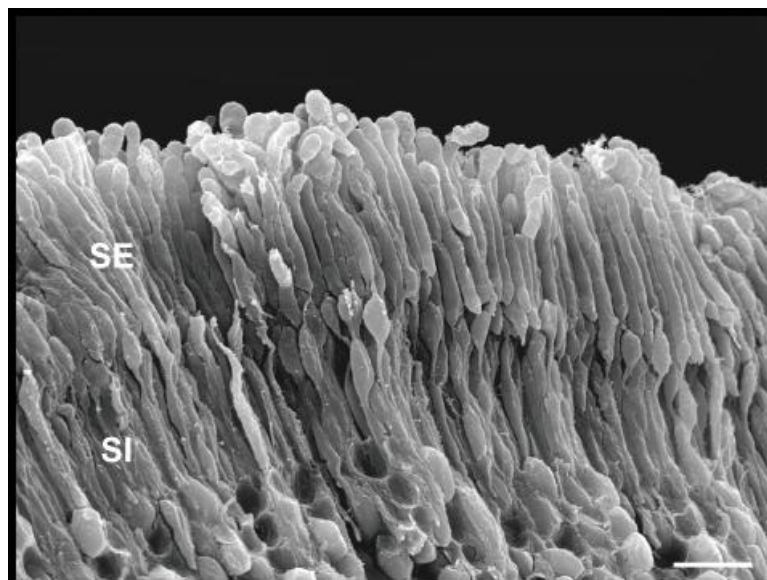
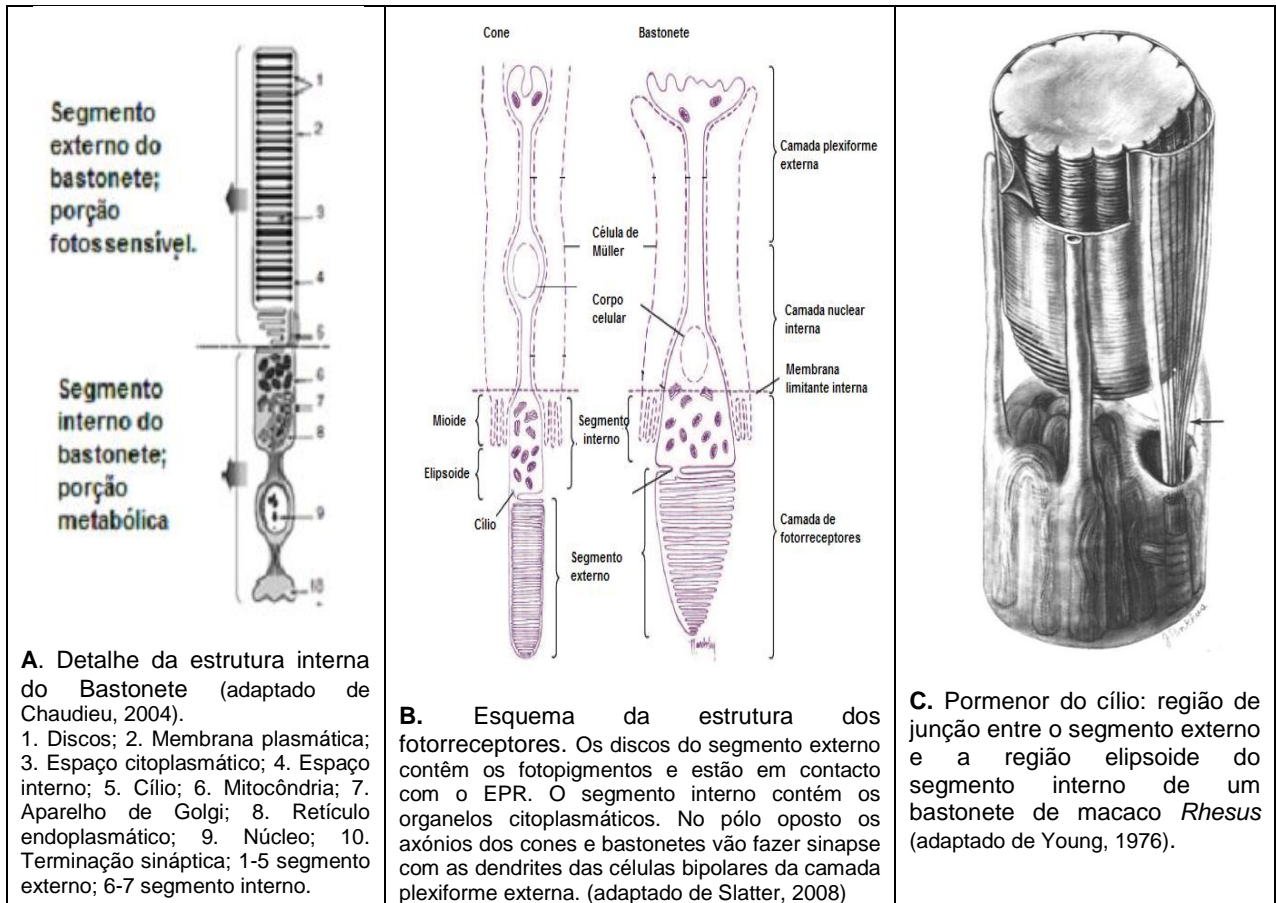


Fig. 10 - Estrutura interna de um bastonete.



4.3 Topografia das Células Fotorreceptoras

A distribuição de cones e bastonetes não é uniforme pela retina dos canídeos. À periferia da retina encontra-se uma maior densidade de bastonetes e numa região temporal ao disco óptico, *area centralis*, existe uma maior concentração de cones. (Slatter, 2008)

Parry (1953) afirma que a percentagem de cones na porção central da retina do cão compreende cerca de 20% dos fotorreceptores e que a densidade dos cones se distribui de forma constante pela retina. Peichl (1991) afirma que os cones perfazem 3% de todos os fotorreceptores na retina do cão e do lobo. (Peichl, 1991)

Contudo, a descrição topográfica detalhada dos cones e bastonetes na retina do cão não foi explorada até que Moawat e colaboradores (2008) elaboraram um estudo com o fim de indentificar a localização exacta da *area centralis* na retina do cão da raça Beagle e descrever a distribuição dos cones e bastonetes dentro da *area centralis*.

No estudo de Mowat (2008) a *area centralis* é identificada como a região da retina onde a concentração de cones e bastonetes é máxima e estima-se que esta se localiza a 1,5 mm temporal e a 0,6 mm superior ao DO, dentro dos limites do fundo tapetal. Foi identificada uma

faixa visual pronunciada que se estende pela porção nasal e temporal da retina em 7 dos 9 Beagles estudados e em apenas 2 foi observada uma faixa visual moderada. Nos cães onde foram observadas faixas visuais moderadas a densidade celular e localização da *area centralis* é semelhante à dos restantes cães com uma faixa visual pronunciada. (Mowat, et al., 2008)

Neste estudo de Mowat e seus colaboradores (2008) também foi elaborada uma descrição quantitativa da distribuição e densidade dos diferentes tipos de cones na retina de cães de raça Beagle. O número de cones com opsinas do subtipo L e M^{†††} ultrapassa largamente os do subtipo S^{***}, em particular na *area centralis*. (Mowat, et al., 2008)

O predomínio de cones do subtipo L e M reflecte-se numa visão acromática e espacial mais desenvolvida.

Ao nível *area centralis* foram avaliadas a dimensão do corte transversal do segmento interno dos fotorreceptores e densidade de cones e bastonetes. Obtiveram-se os seguintes resultados:

- A superfície de corte transversal do segmento interno dos cones e bastonetes é menor na *area centralis* comparativamente à sua região periférica inferior.
- A densidade celular de cones e bastonetes é significativamente superior na *area centralis*;
- O rácio de bastonetes para cones na *area centralis* é menor que à sua periferia;
- Não foi identificada nenhuma região da *area centralis* onde a presença de segmentos internos de cones fosse exclusiva (com ausência do segmento interno dos bastonetes);
- Não há uma diferença significativa entre a percentagem de cones do subtipo L e M dentro da *area centralis* e na sua periferia.

Em termos evolutivos, podemos relacionar este aspecto anatómico com a pressão de selecção natural, na medida em que os canídeos têm poucos predadores voadores e não têm necessidade de desenvolver uma acuidade visual apurada no campo superior da retina. (Mowat, et al., 2008)

Comparativamente à elevada proporção de cones do subtipo L/M, a pequena percentagem de cones do subtipo S também pode ser explicada por mecanismos de pressão de selecção que favoreceram a visão acromática de alta resolução nesta espécie. (Mowat, et al., 2008)

A distribuição dos cones segue aquela das células ganglionares. (Mowat, et al., 2008)

4.4 Fotopigmentos

John W. Draper, em 1872, foi o primeiro cientista a desenvolver o conceito de que para haver absorção de luz e transdução da sua energia electromagnética em energia química é necessária a presença de fotopigmentos (Eckert, 1998), mas só em 1878 é que W. Kühne,

^{†††} Descritos no ponto 4.4 desta secção.

autor do ensaio *On The Photochemistry of the Retina and on Visual Purple*, conseguiu isolar e extrair a Rodopsina (Púrpura Visual ou fotorpigmento dos bastonetes).

Os vários fotorpigmentos têm uma origem comum: derivam de uma molécula ancestral que originou dois grupos de pigmentos, um de curto e outro de longo comprimento de onda. Estes, posteriormente, originaram as moléculas existentes ao longo da filogenia (Tokunaga et al., 1999).

A luz é definida como a porção de radiação do espectro electromagnético que pode ser absorvida pelos pigmentos das células fotorreceptoras da retina. Esta radiação corresponde aos comprimentos de onda entre os 400 e os 750 nm (10^{-9} m). (Brigell et al., 2003)

Assim, definimos a principal função dos pigmentos visuais como a absorção de fotões dentro do espectro de luz visível e a sua sensibilidade é medida pelo comprimento de onda máximo por eles absorvido. (adaptado de Hisatomi, Yamamoto, Kobayashi, Honkawa & Tokunaga, 2002)

Ou seja, depois de iluminado, a resposta eléctrica de cada fotorreceptor é máxima para uma radiação de determinado comprimento de onda. Se o comprimento de onda da radiação incidente for superior ou inferior ao espectro de sensibilidade de determinado fotorpigmento a sua actividade eléctrica é menor. (Eckert, Randal, Burggren & French, 1998)

Os pigmentos visuais são constituídos por uma proteína G (Opsina) ligada covalentemente a um grupo cromóforo: 11 – *cis* –retinal ou 3 – dihidroretinal. O Retinal é o aldeído da vitamina A1 ou Retinol. O 3-dihidroretinal é o aldeído da Vitamina A2 ou 3 – dihidroretinol. (Slatter, 2008)

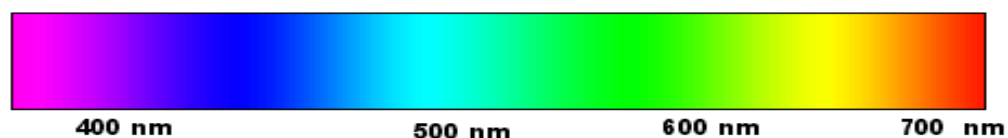
Nos bastonetes a principal opsina é a Escotopsina. (Peña, 2009)

Nos animais há 4 pigmentos visuais que contribuem para a absorção de luz: Rodopsina, Iodopsina, Porfiropsina e Cianopsina. Cada um resulta da combinação das opsinas dos cones e bastonetes com os carotenóides retinal 1 (11-*cis*-retinal) e retinal 2 (3-dihidroretinal). O retinal 1 e a escotopsina formam o pigmento visual Rodopsina. O retinal 1 e a opsina dos cones formam o pigmento visual Iodopsina. O retinal 2 e a escotopsina formam a Porfiropsina. (Slatter, 2008)

A rodopsina tem uma sensibilidade máxima para a luz de comprimento de onda entre os 506 e os 510 nm (verde). (Miller, 1995).

Nos cones distinguem-se três tipos de Fotopsinas de acordo com os seus picos de absorção máximos: 560 nm/ vermelho (L - *long wave length*), 500 nm/ verde (M - *medium wave length*) e 450 nm/ azul (S – *short wave length*). (Peña, 2009).

Fig. 11 - Radiações electromagnéticas e espectro de luz visível.



Para melhor compreender a evolução e diversidade das células fotorreceptoras dos vertebrados, Hisatomi e colaboradores (2002) investigaram a estrutura primária das opsinas e outras proteínas cromóforas envolvidas na fototransdução (retinal1). A estrutura molecular das proteínas foi analisada e comparada. Foi preparado ADN genómico e RNAm retinal de mais de 20 espécies de vertebrados e foram isolados por PCR cerca de 50 genes que codificam opsinas. A análise filogenética das sequências nucleotídicas sugere que as opsinas das células fotorreceptoras destas espécies vertebradas podem ser classificadas em cinco subfamílias, denominadas RH1, RH2, LWS, SWS1 E SWS2 (*LWS long wave sensitivity*; *SWS short wave sensitivity*; *RH rodhopsin*). Com raras excepções, as opsinas RH1 são expressas nos bastonetes enquanto as opsinas pertencentes às restantes subfamílias se encontram geralmente nos cones. Apesar da absorção máxima dos pigmentos visuais associados ao retinal 1 ocorrer entre os 350 e os 570 nm, a distribuição da absorção máxima dos pigmentos que pertencem a estas cinco subfamílias ocorre dentro de 100 nm. Os autores sugerem que esta relação entre a sensibilidade espectral e as cinco subfamílias de opsinas é essencial para que ocorra captação de fotões de espectros de comprimentos de onda mais alargados, possibilitando aos vertebrados a capacidade de discriminar cores. (Hisatomi, Yamamoto, Kobayashi, Honkawa, & Tokunaga, 2002)

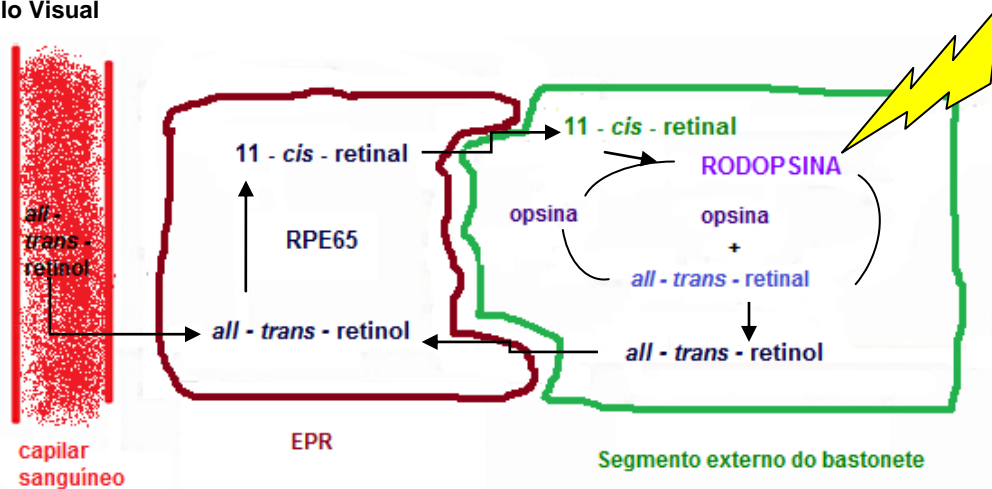
4.5 O Ciclo Visual

O ciclo visual traduz-se na conversão biológica de um fotão num sinal eléctrico ao nível da retina, nomeadamente nos fotopigmentos dos cones e bastonetes. (Eckert, Randal, Burggren & French, 1998)

Como ilustrado em baixo na Fig. 12, o retinol é transportado na corrente sanguínea até ao EPR onde é esterificado a retinil. O retinil mantém-se armazenado na célula epitelial pigmentar da retina e, sempre que necessário, sofre uma hidrolisação e isomerização a *11-cis-retinol* (que pode ser oxidado a *11-cis-retinal*). É na membrana celular do segmento externo do bastonete que o *11-cis-retinal* se liga á proteína opsina para formar o fotopigmento rodopsina. A absorção de um fotão de luz cataliza a isomerização do *11-cis-retinal* a *all-trans-retinal* e este liberta-se da opsina. Esta isomerização despoleta uma cascata de eventos que altera a conformação da proteína G (opsina) e dá início à cascata de transdução do sinal que conduz ao encerramento do canal iónico mediado pelo GMP cíclico e hiperpolarização da célula fotorreceptora. (Eckert, Randal, Burggren & French, 1998)

Uma vez liberto da proteína opsina, o *all-trans-retinal* é oxidado a *all-trans-retinol* e transportado novamente para a célula epitelial pigmentar da retina. (Eckert, Randal, Burggren & French, 1998)

Fig. 12 - Ciclo Visual



Finalmente, antes de ser novamente transferido para a membrana celular externa do bastonete, o *11-cis-retinol* é oxidado pela proteína isomerohidrolase RPE65 a *11-cis-retinal*. Só assim pode ser novamente conjugado com a opsina e formar um novo pigmento visual funcional, a Rodopsina. Na ausência de luz, a opsina e o retinal encontram-se ligados covalentemente por uma ligação *schiff* e o retinal mantém-se sob a configuração de *11-cis-retinal*. (Eckert, Randal, Burggren & French, 1998)

A reciclagem dos fotopigmentos permite aumentar a quantidade de pigmento disponível e assim aumentar a sensibilidade à luz. (Peña, 2009)

No cão, após exposição a luz intensa, a rodopsina demora aproximadamente uma hora para se regenerar completamente. No Homem este processo é bastante mais rápido. (Miller & Murphy, 1995)

4.6 O Mecanismo de Fototransdução

O sistema de transdução de um sinal em qualquer célula sensorial obedece a três princípios: detecção do sinal, amplificação e transmissão do estímulo ao sistema nervoso. (Eckert, Randal, Burggren & French, 1998)

O evento inicial em qualquer sistema de transdução é a detecção do sinal e entende-se por “limite de detecção” a menor quantidade de estímulos energéticos que conduz a uma resposta dada por 50% das células receptoras. (Eckert, Randal, Burggren & French, 1998)

Quando um fotão incide sobre a célula fotorreceptora activa a transducina (proteína receptora da membrana celular ligada ao GTP ou proteína G) e dá-se início a uma cascata de interacções entre as proteínas membranares, com modificação dos segundos mensageiros intracelulares: a transducina activa a fosfodiesterase que hidroliza o GMP_c (guanosina monofosfato ciclica), conduzindo à abertura ou encerramento dos canais iónicos (Na^+ e Ca^{2+}) com modificação da condutância (permeabilidade ao Na^+ e ao Ca^{2+}). Alterações na condutância produzem variações no potencial de membrana da célula receptora e dela depende a codificação de informação sensorial que vai ser transmitido ao SNC. (Eckert, Randal, Burggren & French, 1998)

Cada fotão capturado leva à hidrólise de várias moléculas de GMP_c produzindo uma enorme amplificação do sinal (Eckert, Randal, Burggren & French, 1998). São necessários 1 a 5 fotões para activar um bastonete e 1000 fotões para activar um cone. (Peña, 2009)

O modelo da cascata de fototransdução descrito é relativo aos bastonetes. O mesmo mecanismo ocorre nos cones, mas ainda não está decifrado. Como os cones apresentam proteínas de fototransdução semelhantes às dos bastonetes, sugere-se que a via de transdução de sinal seja semelhante nestes dois fotorreceptores dos vertebrados. (Hisatomi, Yamamoto, Kobayashi, Honkawa, & Tokunaga, 2002)

A codificação da resposta de um único neurónio sensorial permite apenas transmitir informação relativa à intensidade do estímulo. Para que haja uma codificação e transmissão de informação acerca da qualidade do estímulo é necessária a actividade conjunta e combinação da acção de células receptoras que são activadas por esse mesmo estímulo. Por exemplo: como foi referido atrás, algumas células fotorreceptoras respondem diferencialmente à luz vermelha e outras à luz azul mas é graças à organização dos fotorreceptores na retina que é possível codificar informação como a intensidade da luz, distribuição espacial e qualidade do estímulo luminoso. (Eckert, Randal, Burggren & French, 1998)

Em todas as células fotorreceptoras, o fenómeno de transdução de energia luminosa produz alterações no potencial de membrana celular. Nos mamíferos vertebrados os cones e bastonetes hiperpolarizam em resposta a um estímulo luminoso (ao contrário do que se verifica nos outros sistemas sensoriais onde a estimulação das células neurosensoriais leva à despolarização da membrana celular, ou seja, à descarga de um potencial de acção). A luz provoca uma redução da condutância do sódio na membrana celular do segmento externo da célula. No escuro, a permeabilidade da membrana celular do segmento externo dos bastonetes é igualmente permeável ao Na^+ e ao K^+ . O potencial de membrana em repouso permanece num valor intermédio entre o potencial do K^+ e do Na^+ . No escuro, os iões Na^+ extracelulares atravessam para o interior do segmento externo do fotorreceptor através de canais de sódio que

se mantêm abertos em condições escotópicas. Os iões de sódio responsáveis por esta corrente (corrente escura) estão impedidos de se acumularem nas células graças à acção das sódio-potássio ATPases (metabolicamente activas). (Eckert, Randal, Burggren & French, 1998)

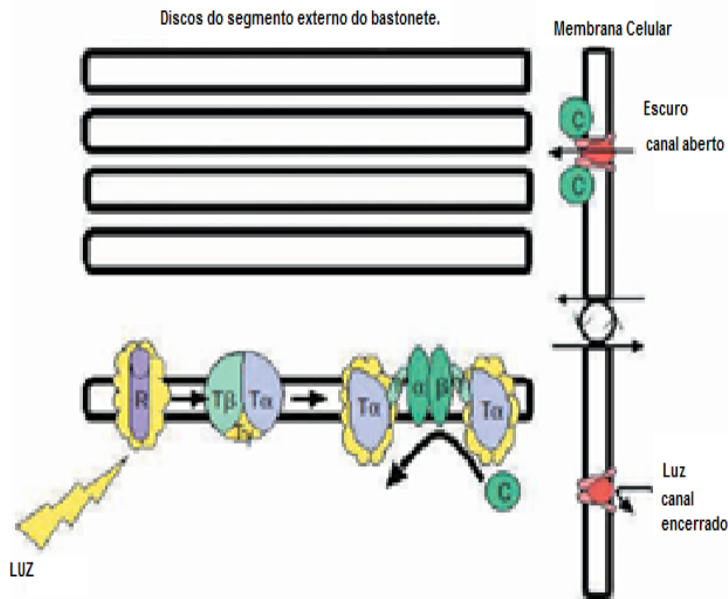
Após a absorção de um fotão de luz visível⁺⁺⁺ pela célula fotorreceptora, a condutância do sódio na membrana celular do segmento externo da célula diminui, levando a uma concomitante redução na corrente de Na^+ . Assim, a membrana celular hiperpolariza e o seu potencial aproxima-se ao do K^+ . Quando o estímulo luminoso cessa, a condutância do Na^+ retorna ao seu valor em repouso (elevado) e o potencial de membrana torna-se cada vez mais positivo e de valor compreendido entre o potencial de Na^+ e de K^+ . (Eckert, Randal, Burggren & French, 1998)

As células bipolares respondem à hiperpolarização dos cones e bastonetes aumentando ou diminuindo o seu potencial de membrana, dependendo do tipo de fotorreceptor que foi estimulado. As células bipolares também recebem influências excitatórias ou inibitórias das células horizontais, que possuem extensos processos laterais e formam uma rede que transporta informação da retina circundante. As células bipolares, à semelhança dos fotorreceptores, não produzem potenciais de acção mas afectam directamente as células ganglionares e por intermédio das células amácrinas. A resposta das células ganglionares é inversa à das correspondentes células bipolares: hiperpolarizam quando as células bipolares estão depolarizadas e depolarizam produzindo um potencial de acção quando as células bipolares estão hiperpolarizadas. (Schmidt-Nielsen, 1998)

O objectivo final desta complexa rede de processamento e avaliação de sinais nervosos é fornecer informação detalhada sobre o contraste luz/escuro ao SNC, já que esta informação é muito mais vantajosa no sentido de construir uma imagem visual do que informar o cérebro sobre condições gerais de intensidade luminosa uniforme e sem detalhe. (Schmidt-Nielsen, 1998)

São estas alterações no potencial de membrana das células fotorreceptoras, produzidas pela incidência de radiação luminosa e captadas por um eléctrodo extracelular, que estão na base do registo do electroretinograma. (Eckert, Randal, Burggren & French, 1998)

⁺⁺⁺ A absorção de 1 fotão leva à hidrólise de 10^5 GMPc, que induz o encerramento de 10^3 canais de Na^+ em 100milisegundos.

Fig. 13 - Mecanismo de Fototransdução (adaptado de Petersen-Jones, 2005)

A cascata de fototransdução ocorre no segmento externo dos bastonetes. Canais dependentes do GMPc estão localizados no segmento externo da membrana celular. No escuro, o GMPc está ligado aos canais catiônicos e estes estão abertos favorecendo o influxo de cátions com despolarização da célula (corrente escura); a presença de luz induz a cascata de transdução visual com hidrólise do GMPc e diminuição da sua concentração. Os canais catiônicos membranares encerram-se e a célula hiperpolariza.

R: rodopsina; T α , T β e T γ : sub-unidades alfa, beta e gamma da fosfodiesterase do GMPc; GMPc: guanosina monofosfato cíclica.

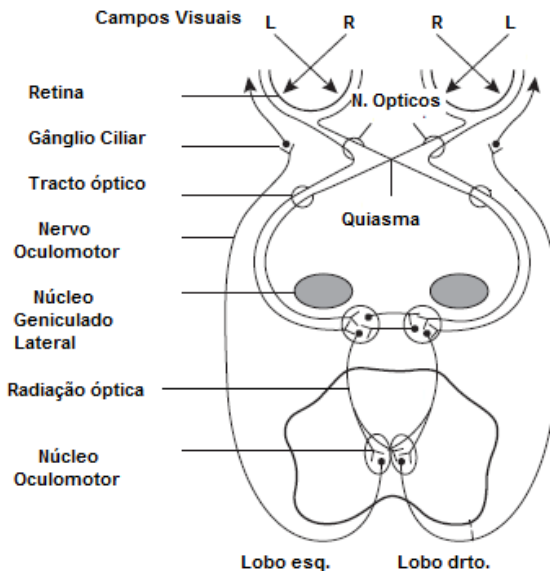
4.7 Via visual e processamento central da informação

De uma forma resumida foram abordados os três níveis de processamento de energia luminosa na retina do cão e das diversas espécies de mamíferos em geral:

- Absorção de luz pelas células fotorreceptoras e consequente hiperpolarização da sua membrana celular;
- Transmissão das variações do potencial de membrana a uma complexa rede de neurónios e o seu processamento;
- Transmissão da informação processada às células ganglionares e, conseqüentemente, ao nervo óptico. (Schmidt-Nielsen, 1998)

Podemos concluir que os fotorreceptores são autênticos “painéis fotovoltaicos” biológicos capazes de detectar as variações de iluminação do ambiente e captar energia luminosa. Contudo, a visão pressupõe a formação de uma imagem e a análise da informação que ela contém. Para que tal aconteça, os estímulos captados pelas células fotorreceptoras e processados pelos restantes neurónios da retina têm que atingir o SNC.

A informação recebida por ambos os olhos é conduzida ao córtex visual pela Via Visual. (Silbernagl e Lang, 2008).

Fig. 14 - Via Visual (adaptado de Peiffer & Petersen-Jones, 2008)

As fibras que têm origem em diferentes partes da retina mantêm uma posição definitiva ao longo do NO e via visual até alcançarem o córtex visual. (Slatter, 2008) Os axónios das CG da retina temporal correm ao longo do NO para o quiasma óptico e, de seguida, projectam-se de forma ipsilateral para o núcleo geniculado lateral no hemisfério cerebral. Os axónios das CG da retina nasal correm ao longo do NO para o quiasma óptico mas cruzam para o núcleo geniculado contralateral. (Cunningham, 1999) Assim, os impulsos gerados por um objecto num campo

visual são transportados para a mesma parte do córtex visual apesar desse mesmo objecto ter despoletado a formação de impulsos em ambos os olhos. Por exemplo, um objecto que se apresenta no campo visual direito de um cão é projectado na porção nasal da retina direita e na porção temporal da retina esquerda. Após cruzamento das fibras ópticas no quiasma óptico, todas as fibras que transportam esta informação proveniente do campo visual direito são encaminhadas para o córtex visual esquerdo. (Slatter, 2008)

Depois de fazer sinapse nos núcleos geniculados laterais do tálamo, a informação chega ao córtex visual primário no lobo occipital por meio das radiações ópticas. (adaptado de Cunningham, 1999)

Uma lesão na parte temporal da retina do olho esquerdo causa um *déficit* na metade nasal do campo visual desse olho. Se o NO do olho esquerdo sofre uma lesão, perde-se o campo visual inteiro desse olho (amaurose). A interrupção da via do quiasma óptico afecta sobretudo as fibras que aí se cruzam, conseqüentemente, a porção lateral do campo visual perde-se em ambos os olhos (hemianópsia bitemporal). A lesão completa do tracto óptico à esquerda resulta em perda da metade direita dos campos visuais em ambos os olhos (hemianópsia homónima). A anopsia homónima também pode ser consequência de alterações patológicas do núcleo geniculado lateral. As interrupções na radiação óptica e no córtex visual primário (como, por exemplo, a anópsia de quadrantes superior e inferior) levam a outros déficits característicos do campo visual, dependendo da sua localização. (Silbernagl & Lang, 2008)

Assim a sucessão de eventos electrofisiológicos previamente descritos nas células sensoriais da retina tem como objectivo último atingir o cérebro, mais propriamente o núcleo geniculado, onde ocorre o quarto e último nível de processamento dos estímulos visuais. As células do núcleo geniculado correspondem aos campos receptivos da retina. Possuem algumas características comuns às CG da retina e a sua função aumenta o contraste entre pequenos focos de luz e alterações na iluminação difusa. De uma forma simplista, o núcleo geniculado pode ser comparado à “estação” formada por conexões sinápticas no caminho entre o nervo óptico e o córtex visual no cérebro. (Schmidt-Nielsen, 1998)

Da extensa gama de tipos celulares reconhecidos no córtex visual, focamos a atenção nas células simples e nas células complexas. As células simples respondem primariamente a linhas de contraste, tais como faixas de luz sobre um fundo escuro ou vice versa. A capacidade de resposta das células simples perante estes estímulos depende da orientação e posição das faixas luminosas lineares sobre determinado campo receptivo da retina. Se uma faixa de luz com uma dada orientação estimula a resposta de uma determinada célula simples, essa mesma imagem ao sofrer uma rotação ou deslocamento dentro do campo receptivo da retina deixa de provocar uma resposta pela célula simples. Porque a resposta das células simples é dependente da orientação e posição de um feixe linear de luz, a sua actividade conduz a uma filtragem de informação no córtex visual. Uma grande parte da informação recolhida pela retina é filtrada e seleccionada a este nível, sendo transmitida apenas informação específica sobre algumas formas de luz contrastante. (Schmidt-Nielsen, 1998)

As células complexas do córtex visual recebem informação de um conjunto de células simples e agrupam-se num mesmo conjunto de células anatomicamente bem definido. As células complexas respondem, tal como as simples, a uma determinada orientação de uma faixa de luz incidente sobre a retina. Se houver rotação desses feixes luminosos as células cessam a sua actividade, mas a deslocação dessas mesma fontes lineares de luz sobre a retina não vai alterar a actividade das células complexas. (Schmidt-Nielsen, 1998)

O córtex visual organiza a informação enviada pelo corpo geniculado, seleccionando linhas e contornos para posterior processamento. O primeiro passo deste processo ocorre nas células simples e consiste na orientação das linhas e contornos da imagem. Esta informação converge para as células complexas de onde parte informação para outras secções do cérebro para que possa ocorrer integração da informação com outros dados recolhidos pelo corpo geniculado. (Schmidt-Nielsen, 1998)

5. FUNDAMENTOS DA VISÃO NOS CÃES

A visão não pode ser descrita como um fenómeno singular. A habilidade de reconhecer a luz e o movimento, a perspectiva visual e profundidade do campo de visão, a percepção de profundidade, a acuidade visual e a capacidade de discriminar cores são as factores envolvidos na sensação de visão. (Slatter, 2008)

A sensibilidade à luz é, de entre todos os mecanismos, o mais complexo (como podemos constatar pela abordagem à electrofisiologia dos fotorreceptores). Passamos agora a descrever cada um dos restantes processos:

- Sensibilidade ao Movimento

Os bastonetes estão particularmente adaptados para detectar movimento e formas. Os cães, tal como as pessoas, têm uma maior sensibilidade visual para objectos em movimento comparativamente a objectos estacionários. Apesar de os Humanos apresentarem maior capacidade de detectar movimento em condições fotópicas, graças á presença de uma mácula rica em cones na porção central da retina, os cães e outros mamíferos domésticos têm uma capacidade superior de detectar movimento em condições escotópicas quando o objecto é visualizado na periferia do campo visual ou quando se desloca a uma velocidade para a qual a retina é particularmente sensível graças á sua riqueza em bastonetes. (Miller, 2001)

Um estudo sobre a performance visual em cães polícia conclui que estes animais são capazes de reconhecer objectos em movimento a uma distância de 810 a 900 metros. Em contrapartida, só lhes é possível reconhecer os mesmos objectos em estagnação a uma distância de 585 metros ou mais próximo. (Miller & Murphy, 1995)

- Sensibilidade á luz

O sistema visual da maioria dos mamíferos domésticos evoluiu no sentido de melhorar a sua *performance* numa ampla variedade de condições luminosas, de forma a poderem explorar mais eficientemente o ambiente em seu redor. Os gatos são os animais que se adaptaram de forma mais eficiente à visão nocturna, com um limite de detecção de luz no escuro 7 vezes superior ao do Homem. Outras adaptações que permitem aos felinos ver melhor no escuro são: um tapete lúcido que reflecte 130 vezes mais luz que o fundo do olho Humano; uma fenda pupilar vertical que produz uma miose mais acentuada em situações de iluminação intensa comparativamente à pupila de diâmetro circular mas que também consegue atingir um grau de midríase maior que aquele possível no Homem (a pupila do gato dilata mais 6 mm do que a Humana); uma córnea de grande dimensão relativa permite que mais luz entre pela abertura pupilar; cristalinos com uma posição relativamente posterior produzem uma imagem mais

pequena mas mais detalhada sobre a retina; retina rica em bastonetes sensíveis à luz. Os cães têm algumas características anatómicas semelhantes às dos gatos mas que lhes conferem menor grau de adaptação à visão nocturna. Estão dotados de capacidades visuais que lhes permitem explorar o ambiente em condições nocturnas e diurnas por igual. O tapete lúcido é celular nos cães e gatos e de colagéneo no equinos e ruminantes, sugerindo que as vantagens que esta estrutura oferece justificam uma evolução divergente entre mamíferos. A gama de radiações para as quais a rodopsina é sensível nos cães e nos gatos é próxima daquela registada para os Humanos, sugerindo que a visão em condições de fraca luminosidade não é potenciada pela expansão do leque de comprimentos de onda detectáveis. (Slatter, 2008)

- Sensibilidade à luz cintilante (*flicker*)

Nos animais a detecção da frequência para a qual a luz cintilante (*flicker*) aparece como uma fonte luminosa constante é a *flicker fusion frequency* e fornece alguma informação sobre as características funcionais dos cones e bastonetes. Esta é a frequência à qual a luz cintilante é perceptível como uma fonte de luz constante e varia com a intensidade e comprimento de onda da luz estimulante. (Slatter, 2008)

A *flicker fusion frequency* pode ser relacionada, de forma grosseira, com a capacidade que a retina tem em actualizar os estímulos luminosos que formam a imagem. Geralmente, quão mais veloz é o animal no seu meio ambiente, maior a frequência a que ocorre *flicker fusion*. Por exemplo, alguns Falcões têm frequências de fusão de luz cintilante que excedem os 100 Hz. Estudos electroretinográficos sugerem que os bastonetes da retina do cão detectam luz cintilante até uma frequência máxima de aproximadamente 20 Hz, semelhante ao valor máximo para os bastonetes dos Humanos. Na presença de luz intensa, os cones da retina dos cães são activados e a fusão da luz do tipo *flicker* ocorre entre frequências de 70Hz a 80Hz ou superiores. (Miller & Murphy, 1995) Por este motivo, a imagem televisiva (que é actualizada no ecrã 60 vezes por segundo e surge ao Homem como uma sequência fluida de imagens que compõem o filme), é perceptível na perspectiva visual dos cães como uma rápida tremulação de luzes. (Miller, 2001)

- Campo de Visão

O campo de visão define-se como a área que um olho consegue ver em redor de um ponto fixo no horizonte. O campo de visão varia acentuadamente entre diferentes raças de cães porque depende da posição do globo ocular na órbita. Nas raças braquicefálicas, o nariz é mais curto e os olhos encontram-se relativamente exoftálmicos, fazendo com que a extensão do campo visual e a área de sobreposição binocular sejam diferentes daquelas encontradas para as raças mesocefálicas (nas quais os olhos tomam uma posição mais dirigida para a frente e o nariz é

mais comprido). Os olhos dos cães mesocefálicos estão posicionados de forma a assegurar um desvio de aproximadamente 20° lateralmente á linha que separa o campo visual ao meio. Quando se consideram os dois olhos juntos, o campo de visão do cão foi estimado em 250° (*versus* os 200° para os gatos e 180° nos Humanos). Posto isto, cada olho pode ver num leque de 120° ipsilateral e entre 15 a 30° contralateral ao seu campo de visão, num total de 135 a 150° de campo de visão monocular. Comparativamente ao campo de visão do Homem, o cão tem um alcance superior em 60 a 70°, conferindo aos cães uma visão mais alargada do horizonte. No entanto, o grau de sobreposição binocular é maior no Homem. (Miller, 2001) (Miller & Murphy, 1995)

- Percepção de profundidade

A percepção de profundidade é maior na região onde o campo visual binocular se sobrepõe. Observar um objecto com os dois olhos simultaneamente não garante uma melhor percepção da profundidade. A *estereopsis* ou percepção binocular de profundidade, resulta quando ambos os olhos vêem um objecto a partir de diferentes posições e a imagem final que se forma ao nível do córtex cerebral é o resultado da fusão de ambas imagens. Se as duas imagens não se fundirem pode resultar em visão dupla (alteração esperada em animais com patologia da órbita). A maioria dos cães tem uma sobreposição do campo visual binocular de 30 a 60°. Outros factores que contribuem para a percepção de profundidade são a luminosidade relativa, o contorno dos objectos, o contraste entre áreas de luz e sombra, a percepção das formas lineares e espaciais, a densidade da textura óptica e *parallaxe* em movimento. Desta forma, animais e Homens com um olho apenas conseguem garantir algum grau de percepção de profundidade. (Miller, 2001)

- Acuidade Visual

A acuidade visual refere-se à habilidade de ver separadamente os detalhes de um objecto que se mantém focado. Depende de propriedades ópticas do olho, tais como a sua capacidade de gerar uma imagem precisamente focada, da capacidade da retina detectar e processar imagens e da capacidade das vias visuais superiores em interpretar a informação que aí chega. Em geral, a acuidade visual nos animais está limitada pela retina e não pelas propriedades ópticas do olho ou pelas vias nervosas que conduzem a informação visual ao córtex visual occipital. Estes últimos poderão limitar a capacidade de discriminação visual em situações de alterações patológicas das respectivas estruturas. (Slatter, 2008)

- Visão a Cores

O conceito de que a visão a cores é um fenómeno reservado às espécies primatas é ainda hoje aceite por muitas pessoas e um dado que, até há poucas décadas, estava enraizado na comunidade científica. Contudo, existem hoje evidências claras de que outras espécies, nas quais podemos incluir o cão e outros animais domésticos, têm capacidade de distinguir algumas das cores que constituem o espectro de cores visível.

A própria estrutura e constituição da retina do cão sugere claramente que há uma possibilidade destes animais possuírem visão a cores. Para além da comprovada existência de um número abundante de cones e dos resultados de testes comportamentais, há evidências electroretinográficas que também suportam a ideia que estes cones respondem fortemente quando testados em condições fotópicas, permitindo concluir que os cães têm capacidade de discriminar cores. (Neitz, Geist, & Jacobs, 1989)

Os cones compreendem 10% das faixas visuais nos canídeos, enquanto que no Homem são a população celular predominante ao nível da mácula. Estão discritos para o Homem três tipos de cones com base na absorção de radiações de diferentes comprimentos de onda (vermelho, verde e azul). Nos cães foram apenas identificados dois tipos funcionais de cones, um tipo sensível à luz de comprimento de onda entre os 429 e 435 nm (cor violeta vista pelo Homem e correspondente aos “cones azuis”) e o segundo tem uma sensibilidade máxima para radiação de comprimento de onda de 555 nm (amarelo-verde aos olhos do Homem) e extensões em direcção ao extremo vermelho do espectro visível (correspondente ao “cone vermelho”). Os cães não possuem (ou não usam) os “cones verdes” e parecem confundir as cores verde e vermelha à semelhança dos daltónicos (deuteranopia). Ou seja, os cães são incapazes de diferenciar radiação visível de médio a longo comprimento de onda, que aparecem ao Homem como cor verde, verde-amarelado, amarelo, laranja ou vermelho. (Slatter, 2008)

Apesar de ainda não se saber se nos cães os cones com afinidade para o “azul” e “vermelho” captam as cores da mesma forma que os nos Humanos, é possível dividir o espectro de luz visível dos cães em duas linhas: uma na gama do violeta e azul-violeta (430 a 475 nm) que é provavelmente perceptível para os cães como a cor azul; outra com comprimentos de onda entre os 500 e 620 nm, perceptíveis ao Homem como amarelo, amarelo-esverdeado e vermelho e aos cães como amarelo. (Slatter, 2008)

Entre os 475 e os 485 nm do espectro visível os cães não têm percepção de cor. A luz neste espectro de radiação é neutra e deve corresponder à cor branca. Os comprimentos de onda correspondentes às extremidades do espectro de luz visível correspondem, provavelmente, às cores que aparecem mais saturadas para os cães: amarelo e azul. Comprimentos de onda

intermédios surgem menos intensamente coloridos e podem surgir como misturas de branco ou cinza. (Slatter, 2008)

É praticamente um dado adquirido que os cães, e provavelmente muitas outras espécies domésticas, são capazes de distinguir perfeitamente diferentes tonalidades de cinzento, indistinguíveis aos olhos do Homem (Slatter, 2008). Esta capacidade é aceite como mais vantajosa na exploração do seu nicho ecológico porque aumenta a capacidade de discriminação visual em situações onde a luminosidade reduzida impede uma eficiente estimulação dos cones. (Slatter, 2008)

Contudo, a discriminação e sensibilidade às variações de luminosidade e a forma como esta capacidade se relaciona com a visão e o estilo de vida dos cães ainda não foi estudada, mas um estudo pioneiro sobre a discriminação da luminosidade no cão foi desenvolvido em 2004 por Pretterer, Bubna-Littitz, Windischbauer, Gabler e Griebel. Foram observados três cães, dois de raça Partor Belga e um Pastor Alemão. O objectivo do estudo era testar a habilidade destes animais em distinguir 30 tonalidades diferentes de uma escala de cinzentos, que variava do branco ao preto. O estudo decorreu sempre nas mesmas instalações cobertas e iluminadas artificialmente com lâmpadas que emitiam um espectro de luz equivalente ao da luz do dia (600 lux), sugerindo que as células primariamente envolvidas na discriminação das diferentes tonalidades de cinzento foram os cones. (Pretterer, Bubna-Littitz, Windischbauer, Gabler & Griebel, 2004)

O cão de raça Pastor Alemão foi aquele que apresentou maior sensibilidade para discriminar diferentes tonalidades de cinzento. Os dois exemplares da raça Pastor Belga apresentaram os mesmos resultados. Uma das conclusões gerais formulada foi que os cães têm uma capacidade de discriminar variações de luminosidade duas vezes mais fraca/pior que os Humanos, uma espécie diurna. (Pretterer, Bubna-Littitz, Windischbauer, Gabler & Griebel, 2004)

6. MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS DA RETINA

Os processos patológicos da retina assemelham-se aos do cérebro. Tal como no SNC, os elementos neuronais da retina adulta dos mamíferos não regeneram. Contudo, os segmentos externos dos fotorreceptores possuem um rápido *turn over* e são das células com maior taxa metabólica do organismo. Enquanto o corpo celular dos fotorreceptores se mantiver viável na camada nuclear externa, estes podem regenerar com facilidade. (Wilcock, 2007)

O EPR mantêm-se mitoticamente activo durante a vida e, à semelhança dos outros epitélios, tem capacidade de autorreparação. Este processo ocorre por deslocação de células para a

região onde o epitélio sofreu agressão, seguido de mitose dessas mesmas células. (Wilcock, 2007)

Os elementos da glia que se encontram na retina, nomeadamente as células de Müller (astrócitos), têm capacidade de proliferar e reparar o tecido necrosado deixando uma densa cicatriz de células da glia (gliose). Por vezes pode ocorrer migração de células do EPR que também sofre metaplasia fibroblástica. A migração de células de Müller e a metaplasia das células do EPR podem levar à formação de membranas subretinianas, entre a camada de fotorreceptores e o EPR, observadas nos descolamentos de retina crónicos. (Wilcock, 2007)

A retina tem uma elevada taxa metabólica e por isso é muito sensível à hipóxia. A morte das suas células ocorre rapidamente após o início de uma oxigenação deficiente em situações de inflamação, descolamento da retina, redução da circulação sanguínea na órbita secundária a trauma e aumento da pressão intra-ocular (PIO). À morte celular segue-se desintegração, atrofia e gliose da retina. (Slatter, 2008)

As doenças que conduzem a lesões graves e disseminadas da retina (especialmente com consequências para as células ganglionares) irão, eventualmente, provocar lesão dos axónios que formam o NO levando à atrofia desta estrutura. Uma das causas apontadas para a atrofia do nervo e disco óptico é a redução do fluxo axoplasmático e consequente má nutrição destes neurónios. A lesão dos fotorreceptores também pode conduzir à perda de CG e das camadas celulares intermédias, com consequente atrofia do nervo e disco ópticos, ao mesmo tempo que lesões crónicas do NO podem causar degenerescência ou atrofia das fibras nervosas e CG. (Slatter, 2008)

Processos infecciosos no vítreo levam invariavelmente a alterações graves da retina. As coroidites estendem-se frequentemente à retina e vice-versa, tal como se verifica nas retinites neurotróficas induzidas pelo Morbilivírus responsável pela esgana canina e que rapidamente se estendem à coróide, ou nos processos neoplásicos da coróide (ex. linfossarcoma) que se estendem à retina. (Slatter, 2008)

A grande maioria das lesões da retina pode ser classificada em três categorias: (Wilcock, 2007)

1- Inflamatórias (Retinites)

Os processos inflamatórios primários da retina ou cujo alvo principal seja a retina são muito raros. As retinites secundárias podem resultar da extensão de endoftalmites ou de encefalites. A patogenia da retinite é semelhante à verificada nos processos inflamatórios do SNC: necrose neuronal, *cuffing* perivascular e gliose. Uma característica particular da inflamação na retina é a sua susceptibilidade para se descolar como consequência da acumulação de exsudados no espaço subretiniano virtual que a separa do EPR e vasos da coróide. Secundariamente à

retinite verifica-se necrose dos fotorreceptores, resultante de isquémia e contacto com os produtos inflamatórios.

2 - Não inflamatórias

A degenerescência não inflamatória dos fotorreceptores pode resultar de doenças metabólicas hereditárias, descolamento da retina e exposição a substâncias tóxicas. Histopatologicamente não são apreciáveis alterações características entre estes três processos.

3 - Destrutivas

Nas situações de glaucoma (aumento da PIO) pode ocorrer destruição dos elementos neuronais da camada interna da retina (conjunto de fibras nervosas, CG e camada nuclear interna), colapso da retina e dos vasos sanguíneos da coróide, mas também alterações no transporte axoplasmático de nutrientes dentro do NO e camada de fibras nervosas.

6.1 Achados oftalmoscópicos na presença de alterações patológicas do fundo do olho: Inflamação, Neurite do Nervo Óptico e Descolamento da Retina

A oftalmoscopia, directa e indirecta, é um meio de grande valor diagnóstico na identificação e diagnóstico destes processos patológicos.

As características das alterações de natureza inflamatória sobrepõem-se muitas vezes às hereditárias. Por exemplo, a displasia da retina em várias raças de cães resulta da formação de pregas na retina que podem mimetizar áreas multifocais de edema e em casos severos pode ocorrer descolamento da retina ou não união da retina nervosa ao EPR. (Millichamp, 2001)

A etiologia e apresentação clínica da corioretinite é complexa e muito semelhante à de outros processos inflamatórios do olho, tais como a uveíte anterior. Agentes infecciosos, causas imunomediadas e neoplasias (geralmente metástases) estão frequentemente envolvidas. É fundamental investigar a causa primária para poder elaborar um diagnóstico e plano de tratamento. (Millichamp, 2001)

Nas situações inflamatórias ou neoplásicas a observação oftalmoscópica regular das estruturas do fundo do olho está comprometida devido ao espessamento dos tecidos resultante da infiltração de células inflamatórias e/ou neoplásicas e exsudados. Este tipo de alteração patológica é visível no fundo tapetal como regiões de opacificação (escuras ou acinzentadas), de limites por vezes mal definidos e que podem dificultar a observação do tapete. As neoplasias primárias do segmento posterior do olho são raras e o linfoma surge como um dos tumores oculares primários mais frequentes. Podem ser observados infiltrados de células inflamatórias, edema ou células neoplásicas no vítreo, retina, espaço subretiniano ou na coróide. Pequenas

regiões focais da retina podem-se apresentar espessadas devido à presença de pregas da retina (tal como em situações de displasia da retina). (adaptado de Millichamp, 2001)

Nos processos degenerativos, são apreciáveis alterações na apresentação de determinada camada celular em consequência de perda e redução da espessura de tecidos subjacentes. (Millichamp, 2001)

Quando ocorre proliferação das células epiteliais pigmentadas em resposta a um processo inflamatório com hiperplasia ou hipertrofia e aumento da concentração de pigmento, observam-se focos de retina com uma pigmentação exacerbada. Estes focos são visíveis na região tapetal e não tapetal igualmente e são acompanhados pela perda de cones e bastonetes. (Slatter, 2008) A hiperpigmentação difusa é geralmente hereditária ou resulta de situações de toxicidade. (Millichamp, 2001)

Os vasos sanguíneos podem surgir elevados ou mascarados por infiltrados. O *cuffing* perivascular, com leves infiltrados celulares, é bem visível no fundo não tapetal. As hemorragias são achados frequentes em situações de vasculite, coagulopatias e isquémia que ocorrem sobretudo nas doenças provocadas por organismos do género *Rickettsia* e na hipertensão sistémica. (Millichamp, 2001) A acumulação de exsudados ou transudados no espaço subretiniano vai provocar elevação e descolamento da retina (que surge na oftalmoscopia como um véu cinzento colado à cápsula posterior do cristalino – leucocoria). (Slatter, 2008)

Lesões degenerativas do fundo tapetal resultam numa redução da espessura da retina sob essa porção do tapete lúcido. Consequentemente verifica-se um aumento da reflectividade tapetal porque há maior quantidade de luz a ser reflectida de volta para o observador. A hiperreflectividade tapetal é geralmente bilateral e simétrica e mais difusa nos casos de atrofia progressiva da retina (hereditária). Em estádios avançados de degenerescência hereditária da retina, além da hiperreflectividade tapetal, são observáveis a atrofia do NO e dos vasos sanguíneos. (Millichamp, 2001)

Na neurite ou neuropatia do NO pode-se verificar: papiledema e edema peripapilar; hemorragia do DO ou em seu redor; degenerescência da coróide e da retina (sobretudo na região peripapilar); pregas da retina (que se dispõem de forma concêntrica ao DO ou sob a forma de linhas próximas ao DO) e atrofia do DO em casos avançados da doença. (Millichamp, 2001)

Uma situação particular é a anomalia do olho do Collie. É uma doença hereditária autossómica recessiva e congénita que afecta esta e outras raças de cães pastores. Apresenta-se como uma alteração da pigmentação do fundo ocular lateral ao DO mas que pode afectar o NO, retina, coróide e esclera. Nas situações mais graves verificam-se colobomas do DO e pregas da retina que conduzem ao seu descolamento e hemorragias intraoculares. Os cachorros nascem com

estes defeitos oculares e entre as 6 e as 8 semanas de idade são observadas lesões que permanecerão para o resto da vida, podendo evoluir. Por exemplo, cachorros com colobomas da retina poderão desenvolver descolamentos da retina e outros com hipoplasia da coróide poderão desenvolver uma hiperpigmentação tal que poderá devolver ao fundo do olho um fenótipo compatível com a pelagem do cão. (Millichamp, 2001) (Pickett, 2009)

Sucintamente, em situações de retinite, neurite do NO e descolamento da retina a oftalmoscopia directa e indirecta permite observar:

- Lesões assimétricas, irregulares;
- Opacidades cinzentas/ escuras sobre o tapete lúcido;
- Alterações da cor do tapete lúcido;
- Opacidades brancas/ cinzentas da região não tapetal (edema);
- Alterações primárias da região não tapetal;
- *Cuffing* perivascular na região não tapetal;
- Hemorragias pre, intra e subretinianas;
- Relevo da retina/ descolamento da retina (leucoria);
- Edema/ hemorragia do NO. (Millichamp, 2001)

6.2 Descolamento da retina

A retina neurosensorial está, como previamente ilucidado, ancorada apenas em dois pontos: *ora ciliaris* e DO. A sua posição fixa, contra o EPR, é mantida graças à pressão que o humor vítreo exerce sobre ela e parcialmente pelas interdigitações entre os fotorreceptores e células do EPR. O espaço virtual existente entre a retina neurosensorial e o EPR é um remanescente do lúmen da Vesícula Óptica Primária e persiste por toda a vida. (Wilcock, 2007)

Nos cães, várias condições congénitas e hereditárias da retina (tais como a displasia vitreoretiniana e a anomalia do olho do Collie) podem favorecer o descolamento da retina. Algumas raças como o *Bichon Frise* parecem predispostas a diálise da retina (desinserção da retina ao nível da *ora ciliaris retinae*) e descolamento. A progressão da catarata hipermetura e/ou a cirurgia de cataratas são igualmente factores predisponentes ao desenvolvimento de soluções de descontinuidade na retina e descolamentos reumatógenos da mesma. (Millichamp, 2001)

O descolamento ou separação da retina, é uma complicação séria e frequente de muitas patologias oculares. Pode ser focal, multifocal ou total. O descolamento focal de uma pequena

região da retina geralmente não provoca alterações clinicamente detectáveis na visão, enquanto o descolamento total da retina leva a cegueira súbita. (Slatter, 2008)

A distância que separa a camada de fotorreceptores do EPR pode ser muito pequena (originando os descolamentos achatados ou *flat detachments*) ou de tal forma grave que toda a retina se separa do EPR (com excepção dos pontos de ligação ao corpo ciliar e DO) e fica suspensa no vítreo (*morning glory detachment*). (Wilcock, 2007)

Os tipos mais frequentes de descolamento da retina são:

- Reumatógeno

O descolamento é causado por fendas na retina, resultantes de trauma ou degenerescência, que levam à acumulação de humor vítreo liquefeito no espaço subretiniano.

- Exsudativo

A acumulação de um exsudado seroso, fibrinoso ou celular (hemorragia) no espaço subretiniano em consequência de coroidite, retinite ou hipertensão dos vasos da retina.

- De Tracção

A maturação de hemorragias ou de fibrina dentro do vítreo provoca uma tracção da retina, afastando-a da coroide. A combinação de tecido fibroso, de fibrina e da retina traccionada forma uma membrana, denominada por membrana epiretiniana, que se estende desde o corpo ciliar dorsal ao cristalino até ao corpo ciliar ventral ao cristalino. (Wilcock, 2007)

As consequências do descolamento da retina para os fotorreceptores são imediatas. Verificou-se experimentalmente que, ao fim de duas semanas, o segmento externo dos fotorreceptores fica irreversivelmente danificado. Evidências histopatológicas e clínicas sugerem que, quando a doença ocorre naturalmente e na presença de produtos inflamatórios ou quando a distância entre a retina e o EPR é grande, a degenerescência dos fotorreceptores ocorre mais rapidamente (em dias). O segmento interno dos fotorreceptores e o seu corpo celular são mais resistentes à lesão e podem permanecer viáveis por meses após descolamento. (Wilcock, 2007)

7. ALTERAÇÕES CONGÉNITAS E HEREDITÁRIAS DA RETINA

O genoma canino é organizado em 39 pares de cromossomas (cada cromossoma formado por dois alelos), 38 autossómicos e os cromossomas X e Y. O Homem tem um genoma composto por 22 pares de genes autossómicos e os cromossomas X e Y. A maioria dos genes são partilhados entre as duas espécies, à excepção daqueles únicos em cada uma das espécies ou de outros que tenham sofrido uma duplicação específica (por exemplo a família de genes que codifica o olfacto, obviamente mais numerosa no cão que no Homem). (André et al., 2008)

O cão é o mamífero que mostra maior diversidade morfológica e comportamental. Esta diversidade resulta da sua história evolutiva e da criação e selecção Humana que, durante séculos, originou uma enorme variedade de raças. O aumento de susceptibilidade para as doenças genéticas está intrinsecamente associado a essa selecção. A maioria das doenças hereditárias nos cães é espontânea e quase sempre específica de uma determinada raça. (Adaptado de Abitbola, André, Queneyc, & Chaudieud, 2010 e de André et al., 2008).

As degenerescências hereditárias da retina são um vasto grupo de doenças que afecta primariamente a neuretina ou o EPR. Incluem o grupo das atrofas progressivas e generalizadas da retina, a distrofia epitelial da retina, a cegueira noturna congénita estacionária (ou distrofia hereditária da retina) e a cegueira diurna (ou hemeralópia). (Gould, Peterson-Jones & Sargan, 2002)

Grande parte destas doenças decorre da mutação de um gene e destas mutações a vasta maioria é do tipo recessivo. Isto significa que, no que diz respeito às alterações hereditárias associadas a um único gene, quando este sofre uma mutação pode ocorrer qualquer uma das três possibilidades de composição genética (genótipo):

- Normal: possui duas cópias idênticas e perfeitamente normais do mesmo gene (2 alelos normais);
- Portador: possuiu uma cópia normal do gene relevante e uma cópia mutante, recessiva (tem um alelo normal e outro mutante);
- Afectado: possuiu duas cópias da mutação recessiva (2 alelos mutantes). (Crispin et al., 2008)

Os cães com genótipo normal são, como seria de esperar, fenotipicamente/ clinicamente normais. Aqueles portadores de um gene recessivo mutante encontram-se clinicamente saudáveis e são fenotipicamente normais, porque a presença da cópia intacta do gene normal silencia a expressão da cópia mutante recessiva. Apenas os homozigóticos recessivos (com ambos os genes mutados) manifestam clinicamente a doença e são identificados no exame oftalmológico. Uma vez identificado o animal afectado é possível identificar outros portadores através da análise do seu *pedigree*. Os parentes saudáveis de um cachorro afectado são, por definição, portadores. (Crispin et al., 2008)

As alterações hereditárias da retina são classificadas em Displasias e Atrofas.

Com o termo displasia pretende-se descrever aquelas patologias em que a neuroretina não sofreu diferenciação e desenvolvimento correctos *in utero* ou em fases precoces do desenvolvimento pós parto. As malformações que daí decorrem podem permanecer estacionárias ou progredir no sentido da atrofia da retina e consequente cegueira. (Pickett, 2009)

Nas situações de atrofia o desenvolvimento *in utero* da neuroretina decorre dentro da normalidade mas, em determinada fase da vida adulta do animal, a retina sofre um processo degenerativo que culmina em degenerescência completa da retina e cegueira. (Pickett, 2009)

7.1 Displasia da Retina

O termo Displasia da Retina (DR) inclui um grupo muito vasto de patologias bilaterais e simétricas da retina, que resultam de uma proliferação desordenada e diferenciação atípica das células da retina durante o desenvolvimento embrionário. Em algumas raças é uma doença reconhecida como congénita e hereditária (autossómica recessiva) e está presente na lista A da BVA/KC/ISDS, mas além dos factores hereditários uma vasta gama de agentes pode levar ao seu aparecimento. (Crispin et al., 2008) (Chaudieu & Molon-Noblot, 2004) (Barnett, Curtis & Millichamp, 1983)

As causas mais frequentes de DR secundária incluem: alterações da diferenciação de neuroblastos em fotorreceptores induzida pelo Herpes Vírus Canino; deficiência em Vitamina A; exposição a radiação X; alguns fármacos (por exemplo, anti-virais contra o herpes vírus, actinomicina D, metilmetoximetanol, clorambucil); traumatismos intra-uterinos e/ou hipóxia fetal. (adaptado de Chaudieu & Molon-Noblot, 2004)

A DR afecta as várias camadas celulares que compõem a retina e em determinadas situações o próprio vítreo (dependendo da gravidade da degenerescência). (Gelatt, 2007)

Histopatologicamente caracteriza-se pela presença de pregas da retina sensorial e de rosetas formadas por um número variável de células retinianas dispostas em redor de um lúmen central. A DR não é geralmente uma alteração progressiva e pode ou não afectar a visão. (Gelatt, 2007)

O diagnóstico precoce torna-se complicado porque nem todas as formas da doença são hereditárias. Nos olhos de um cachorro em desenvolvimento as alterações oftalmoscópicas podem ser mais difíceis de detectar e existem evidências de que algumas formas de DR se desenvolvem em intervalos de tempo variáveis após o nascimento. (Crispin et al., 2008)

As lesões oculares compatíveis com DR podem surgir associadas a alterações sistémicas, a um defeito ocular primário ou podem ainda fazer-se acompanhar de outras lesões congénitas tais como a microftalmia; colobomas; displasia do vítreo; leucocoria; nistagmos rotatório; hemorragias (resultantes de neovascularização da retina); cataratas do tipo polar posterior e em Y invertido, nucleares não evolutivas e corticais evolutivas. Cataratas secundárias estão presentes ocasionalmente e são, tal como o *microftalmos* e os colobomas, outros sintomas oftalmológicos de DR. (Gelatt, 2007) (Crispin et al., 2008) (Barnett, Curtis & Millichamp, 1983)

Devido à sua prevalência, deve ser tida em conta como um diagnóstico diferencial em qualquer cachorro que se apresente cego. (Slatter, 2008)

A Displasia Fisiológica da retina é uma alteração resultante do maldesenvolvimento da neurorretina que, durante anos, foi entendida como uma verdadeira degenerescência e classificada como atrofia progressiva precoce da retina. Esta alteração envolve a neurorretina por completo e é irreconhecível por oftalmoscopia numa face precoce. A maturação irregular dos fotorreceptores, e eventual morte celular com conseqüente cegueira, podem ser detectadas entre as 6 semanas e um 1 ano de idade. As alterações fundoscópicas observáveis incluem atenuação dos vasos da retina e hiperreflectividade do fundo tapetal devido à redução da espessura e degenerescência da neurorretina subjacente. Histologicamente os fotorreceptores são as primeiras células a evidenciar alterações morfológicas, seguidos das restantes células da retina. (Pickett, 2009)

Os animais que sofrem de displasia da retina não devem ser utilizados para criação.

7.2 Retinopatias.

As retinopatias podem ser classificadas nas quatro categorias que se seguem (Slatter, 2008):

7.2.1 - Distrofias, displasias, atrofias e degenerescências hereditárias.

7.2.2 - Retinopatias adquiridas.

Geralmente são secundárias a doenças sistémicas, tais como doenças infetocontagiosas que também afectam a coróide e a retina (ex. Esgana canina e alguns fungos) e doenças cardiovasculares, associadas a hipertensão sistémica, anemia ou síndrome de hiperviscosidade sanguínea.

7.2.3 - Retinopatias específicas.

Exemplo, a atrofia da retina secundária a glaucoma e o síndrome uveo-dermatológico.

7.2.4 – Retinopatias de causas diversas.

Neste grupo incluem-se as retinopatias resultantes de má nutrição (por deficiência de taurina, afectando sobretudo os gatos, e hipovitaminose A); doenças de armazenamento (ex. lipofuscinose ceróide) e retinopatias tóxicas resultantes da ingestão de plantas tóxicas).

Com interesse para esta dissertação e para uma melhor compreensão da utilidade da electroretinografia, abordaremos com maior detalhe o ponto 7.2.1 (retinopatias hereditárias).

Magnusson foi o primeiro a publicar, em 1909, o primeiro caso de Degenerescência da Retina observado em cães da raça Gordon Setter. (Gellat, 2007) (Barnett, 1965)

Tratava-se de um exemplar que apresentava cegueira noturna progressiva, à semelhança da sua progenitora, irmãos e crias. Dadas as semelhanças com a RP no Homem (também conhecida por Doença de Leber ou Amaurose congénita de Leber), Magnusson decreveu, então, a cegueira noturna dos cães da Raça Gordon Setter como Retinite Pigmentar. (Barnett, 1965)

Várias publicações se seguiram reportando situações semelhantes em cães de outras raças. Em 1914 Henry Gray publica a ocorrência de atrofia bilateral dos vasos sanguíneos da retina num cão jovem, que ficou gradualmente cego. Numa outra publicação o mesmo autor registou a atrofia bilateral do disco óptico em sete exemplares da raça King Charles Spaniel. Nestes cães a cegueira também foi progressiva e não foi identificada a causa primária. (Barnett, 1965)

Em 1938, Rasbridge publica a primeira referência bibliográfica sobre cegueira no Setter Irlandês. Os exemplares desta raça que apresentavam olhos negros eram valorizados em termos de competição e estalão da raça. Por este motivo o seu cruzamento foi favorecido. Num artigo intitulado *Light eyes in the Irish Setter*, Rasbridge refere que apesar de serem motivo de desqualificação em termos de estalão de raça, os cães de raça Setter Irlandês com olhos mais claros eram visualmente mais aptos que aqueles que apresentavam olhos negros (muitas vezes invisuais). Os “olhos negros” podem dever-se a uma coloração fisiológica mais escura da íris (caractística pretendida pelos criadores) ou à dilatação da pupila, sinal precoce de degenerescência da retina. A selecção dos cães com esta característica pode ter levado ao cruzamento indesejado de alguns cães afectados. (Barnett, 1965)

Só em 1943 é que Wilson se refere à cegueira noturna do Setter Irlandês como um problema hereditário e sugeriu implantar regras para a criação destes cães a fim de erradicar este problema da raça. Um ano mais tarde, Rasbridge elaborou um estudo detalhado sobre mais de 100 cruzamentos entre indivíduos da raça Setter Irlandês que deram origem a cachorros cegos. Rasbridge sugeriu tratar-se de uma doença associada a um gene autossómico recessivo, reforçando o carácter hereditário desta patologia, de forma a contrariar as correntes que justificavam a cegueira noturna com base em deficiências multivitamínicas. Em 1945 o *Kennel Club* Inglês adicionou a “cegueira noturna” à lista de desqualificações que impediam estes cães de ganhar qualquer prémio. (Barnett, 1965)

Foi assim que durante os anos 30 e 40 se reconheceu a natureza hereditária da cegueira noturna e progressiva do Setter Irlandês, passando a ser reconhecida como “Atrofia Progressiva da Retina”, vastamente divulgada pelas iniciais APR no mundo da criação de cães. (Barnett, Curtis & Millichamp, 1983)

Poucos anos mais tarde, a APR do Setter Irlandês foi estudada por Hodgman, Parry, Rasbridge e Steel (1949) em 30 animais afectados. No exame oftalmológico destes cães o autor identificou: midríase, diminuição do reflexo pupilar à luz em estádio mais avançados da doença, hiperreflectividade tapetal, cataratas (presentes em alguns casos e tão cedo quanto aos 4 meses de idade), orbita e anexos sem alterações patológicas, PIO normal. (Hodgman, Parry, Rasbridge & Steel, 1949)

Os aspectos oftalmoscópicos normais do fundo do olho do Setter Irlândes foram comparados com aqueles de animais com APR e diferenciaram-se três estádios de evolução da doença (I, II e III):

I) Perda do aspecto granuloso do tapete, aumento da reflectividade tapetal (com um tom de verde mais pronunciado) com a porção não tapetal ligeiramente acinzentada; a este nível não se registam alterações nos vasos sanguíneos ou, quando presentes, são mínimas;

II) Tapete de cor verde marcada que começa a suprimir os tons de amarelo e laranja normais; o aspecto granuloso normal da região tapetal perde-se e é substituído por um tapete brilhante, bastante reflectivo; a região não tapetal apresenta-se completamente cinzenta; vasos sanguíneos passam a ser mais finos e em menor número; DO mais pálido.

III) DO branco e de margens irregulares; *tapetum lucidum* hiperreflectivo e *tapetum nigrum* surge pavimentoso e cinzento. Os principais vasos sanguíneos apresentam um diâmetro reduzido e os mais pequenos estão ausentes. (Hodgman, Parry, Rasbridge & Steel, 1949)

A velocidade a que a APR se desenvolve varia entre cães e pode ir de poucos meses a vários anos. Alguns cães apresentam uma visão muito limitada ao ano de idade, enquanto outros mantêm alguma capacidade visual até aos 6 – 7 anos. Alguns sinais de cegueira nocturna são diagnosticados entre as 6 – 8 semanas de idade, mas a maioria dos cachorros só manifesta sinais comportamentais de visão nocturna deficiente entre as 4 – 6 meses de idade. (Hodgman, Parry, Rasbridge & Steel, 1949)

Parry (1953), no segundo de uma série de artigos sobre patologias da retina em cães intitulado *Generalised Progressive Atrophy of Hereditary Origin* descreve os achados oftalmoscópicos em 120 exemplares da raça Setter Irlandês, incluindo 16 ninhadas compostas por 92 cachorros. Nem todos os cães apresentavam APR, servindo os animais saudáveis como controlo.

As alterações oftalmoscópicas foram observadas OU e no mesmo estádio da doença. Apesar de os primeiros sinais de APR hereditária serem identificáveis aos 6 – 8 meses de idade, a evolução da doença é variável, com animais a perder a visão entre os 6 - 8 meses e outros somente a partir dos 3 anos. A maioria dos cães desenvolveu cataratas nucleares bilaterais aos

2 anos de idade e em animais mais velhos aumentava a incidência de luxação do cristalino. (Parry, 1953)

Tal como Hodgman e associados, Parry (1953) estabeleceu 3 estádios de evolução da APR hereditária e identificou as alterações histopatológicas em cada.

Tabela 3 - Classificação das APR por Parry.

Estadio de desenvolvimento	Caracterização	Alterações histopatológicas
1	Perda gradual da visão nocturna; visão diurna normal.	Atrofia dos bastonetes e do seu núcleo; a espessura reduzida da retina deve-se principalmente à perda progressiva dos núcleos dos bastonetes.
2	Perda total da visão nocturna; deterioração da capacidade de ver durante o dia.	Devido à desintegração dos cones a membrana limitante externa assenta sobre o EPR.
3	Perda completa da visão (diurna e nocturna); pode haver formação de cataractas.	Membrana nuclear externa reduzida a uma camada interrompida de núcleos de cones; camada nuclear interna e de CG praticamente inalteradas; EPR sem qualquer pigmento, mesmo na região do fundo não tapetal; <i>coriocapillaris</i> reduzida em espessura. Com a progressão da doença e nos aspectos mais avançados deste estágio verifica-se esclerose, redução significativa da espessura da retina (passa a ser formada por uma única camada de núcleos irregularmente dispersos), redução do número e calibre dos vasos da coroide, aglomeração do pigmento da coroide em massas.

Parry também concluiu que a transmissão do gene responsável pela APR segue uma distribuição Mendeliana. Do cruzamento de dois progenitores afectados resulta sempre uma ninhada de cachorros afectados, mas do cruzamento de um “portador” com um cão com APR podem nascer cachorros afectados e não afectados em igual número. O cruzamento de um macho/ fêmea não portador do gene responsável pela APR hereditária com uma fêmea/ macho portador afectada(o) não produz descendência afectada. (Parry, 1953)

Por esta altura, a fim de limitar o cruzamento de cães com APR hereditária, o Clube Inglês de Canicultura estabeleceu alguns critérios para identificar entre os seus associados, nomeadamente o Setter Irlandês de pêlo vermelho, aqueles portadores do gene responsável. Estes critérios foram:

- Aumento do diâmetro pupilar,
- Aumento da reflectividade tapetal,

- Testes de performance,
- Exame oftalmoscópico,
- Testes de cruzamentos,
- Avaliar/ fazer um levantamento dos *pedigrees*. (Barnett, 1983)

Hoje sabemos que, nos cães, as degenerescências da retina afectam primariamente os fotorreceptores, o EPR ou ambos. Desde o primeiro estudo bem documentado sobre a degenerescência da retina no Gordon Setter, têm sido identificadas várias raças de cães com degenerescências hereditárias da retina. (Gelatt, 2007)

O termo generalista de Atrofia Progressiva da Retina (APR) tem sido aplicado para descrever estas condições e dois tipos de APR são identificados, de acordo com a extensão das lesões do fundo ocular: (Gelatt, 2007)

- APR generalizada: implica uma hiperreflectividade de todo o fundo ocular em fases mais avançadas da doença, que acontece devido à atrofia generalizada das estruturas da neurorretina e culmina em cegueira clínica. (Gelatt, 2007)

- APR central: verificam-se acumulações multifocais de pigmento dispersas pela retina que, num estágio muito avançado da doença, estão rodeadas por áreas de hiperreflectividade. Sabe-se hoje que a APR central resulta de um defeito primário do EPR e nem sempre conduz a cegueira, pelo que se deve denominar por Distrofia Epitelial Pigmentar da Retina. (Gelatt, 2007)(Gould, Peterson-Jones & Sargan, 2002)

Durante as últimas décadas o complexo da APR tem vindo a ser classificado e subdividido de acordo com a sua etiologia molecular ou celular e são utilizados símbolos de genes para diferenciar estas alterações. Contudo, dada a diversidade de estruturas envolvidas neste complexo de doenças e a sua fisiopatologia, ainda não foi possível estabelecer, com uniformidade e rigor científico, um conjunto de regras para a classificação da APR. Contudo, é possível diferenciar de grosso modo duas classes de doenças: (Gelatt, 2007)

- Aquelas que resultam de alterações do desenvolvimento dos fotorreceptores;
- Aquelas que resultam de doenças degenerativas dos fotorreceptores.

As doenças do desenvolvimento dos fotorreceptores reflectem um amplo conjunto de alterações genéticas diferentes que se expressam citologicamente no período pós-natal, quando as células visuais se começam a diferenciar. Estas alterações consistem, geralmente, na displasia dos cones ou dos bastonetes (podendo verificar-se simultaneamente) e cada uma delas possui um decurso próprio da doença e um fenótipo característico. Uma particularidade das displasias dos fotorreceptores é de que, mesmo antes de atingir a maturidade morfológica e funcional (aproximadamente às 8 semanas no cachorro), a retina já apresenta importantes alterações

estruturais dos cones ou bastonetes. A velocidade de progressão da doença e perda dos fotorreceptores no decurso da doença é rápida. (Gelatt, 2007)

Não se deve confundir a displasia dos fotorreceptores com a displasia da retina, já referida.

Por outro lado, as patologias degenerativas resultam de alterações pelas quais as células fotorreceptoras degeneram após terem sofrido um processo de diferenciação normal. Este último grupo de doenças caracteriza-se por uma progressão mais lenta que é influenciada por factores temporais e topográficos. Em cães afectados com um tipo de degenerescência de fotorreceptores, a degenerescência progressiva dos bastonetes - cones (dabc), foram identificados alelos diferentes no mesmo *locus* de um gene que se expressa para regular a velocidade de degenerescência destas células. (Gelatt, 2007)

O complexo de alterações que constituem as Atrofias Progressivas da Retina é altamente heterogéneo em termos de expressão genética, com diversos modos de transmissão e um grande número de genes e mutações envolvido. (André & al., 2008)

À excepção do Husky Siberiano, cuja forma de transmissão da APR está associada ao cromossoma X, em todas as raças estudadas até à data a APR é uma doença hereditária com modo de transmissão autossómico recessivo. (Genetics Committee of the American College of Veterinary Ophthalmologists [ACVO], 2007)

De acordo com a idade de aparecimento dos primeiros sintomas, as Degenerescências, Distrofias ou Displasias primárias da retina podem ainda ser classificadas em precoces ou tardias. Em cada grupo, as doenças podem diferir na patogenia e idade de apresentação dos primeiros sintomas. (Slatter, 2008) (Consultar Tabela 12 dos anexos)

Atendendo a estas características, podemos ainda reclassificar as alterações degenerativas da retina em três tipos (I, II e III) que contemplam:

Tabela 4 - Tipos de APR (adaptado de Slatter, 2008)

Degenerescência Progressiva da Retina de Tipo I	Degenerescência Progressiva da Retina de Tipo II	Degenerescência Progressiva da Retina de Tipo III
Displasia de bastonetes-cones: Setter Irlandês; Poodle Miniatura; Collie; Schnauzer Miniatura.	Distrofia do Epitélio Pigmentar (APR central): predominantemente nas raças de trabalho.	Hemeralopia: Malamute do Alaska, Poodle Miniatura.
Displasia dos Bastonetes: Elkhound Norueguês		
Degenerescência precoce da retina: Elkhound Norueguês		
Degenerescência dos cones e bastonetes: Poodle miniatura; Cocker Spaniel Inglês e Americano.		

Continuação da tabela Tabela 5 - Tipos de APR (adaptado de Slatter, 2008)

Sinais Clínicos:	Sinais Clínicos:	Sinais Clínicos:
Perda progressiva de visão diurna seguida de cegueira noturna.	Capacidade visual reduzida.	Cegueira diurna.
Aumento da reflectividade tapetal.	Capacidade de ver ao longe quase normal.	Sem sinais oftalmoscópicos.
Midríase.	É visível pigmento sobre a zona tapetal da retina.	ERG confirma cegueira diurna.
Atrofia dos vasos retinianos.	Formação de cataratas é rara.	Não se desenvolvem cataratas.
Alterações no ERG ou ausência de resposta.	Reflexo pupilar à luz encontra-se normalmente presente.	
Ausência de reflexo pupilar à luz em estádios avançados da doença.	ERG normal	
Cataratas secundárias em alguns pacientes.	Visão nocturna normal	
Eventual desenvolvimento de cegueira completa.		

7.3 Sintomas de APR

Clinicamente a diferentes variantes do complexo da APR manifesta-se de forma semelhante, independentemente do tipo de alterações celulares que lhe deram origem. As manifestações clássicas de APR são alterações fundoscópicas bilaterais e cegueira, inicialmente em condições de penumbra (nictalopia). Os reflexos pupilares à luz tornam-se mais reduzidos à medida que a doença progride, mas mesmo nos estádios mais avançados da doença encontram-se presentes (constitui um factor importante para os diagnósticos diferenciais de cegueira). A abertura pupilar em repouso é sempre maior nos animais afectados, comparativamente àqueles sem APR. Algumas raças de cães com APR estão predispostas a desenvolver cataratas secundárias em estádios avançados da doença. Inicialmente as cataratas são corticais posteriores, com vacuolização e opacificação. Com alguma frequência podem estender-se estrias do pólo posterior do cristalino ao córtex equatorial e, mais tarde, a todo o cristalino. (Gelatt, 2007)

Contudo, ainda não foi estabelecido um consenso em relação à origem das cataratas em pacientes caninos com APR. Alguns autores advogam poder tratar-se de duas entidades separadas enquanto outros assumem que a libertação de radicais tóxicos secundária à degenerescência das células da retina poderá levar à formação de cataratas. Apesar da discórdia, na presença de retinopatias hereditárias, a remoção cirúrgica das cataratas é contraindicada por não ser o factor essencial à restauração da visão. (Slatter, 2008)

Está completamente desaconselhado o cruzamento de qualquer cão que demonstre ser portador de alterações bilaterais e simétricas da retina compatíveis com degenerescência da retina (considerada APR até prova em contrário). (ACVO, 2007)

Tabela 6 - Alterações oftalmoscópicas encontradas na APR (adaptado de Gelatt, 2007)

Alterações oftalmoscópicas na APR	
Fase da doença	Alterações Oftalmológicas
Inicial	Pode ser identificada uma ligeira hiporreflectividade tapetal acinzentada sobretudo no fundo tapetal periférico; ligeira atenuação vascular e proeminência dos vasos retinianos do fundo tapetal periférico e centro-periférico.
Moderada	Alterações proeminentes e generalizadas da coloração do fundo tapetal; atenuação vascular; aumento da reflectividade tapetal (mais acentuada no fundo tapetal centro-periférico); diminuição da pigmentação do fundo tapetal; desmielinização e alteração da forma do disco óptico; redução do calibre e número dos vasos sanguíneos; atrofia óptica precoce.
Avançada	Hiperreflectividade tapetal de todo o fundo ocular; perda contínua da pigmentação do fundo tapetal; só se conservam os vasos sanguíneos centrais de maior calibre; desmielinização, palidez e atrofia do disco óptico.

7.4 O Cão como modelo das Retinites Pigmentares Humanas

As atrofia progressivas da retina (APR) na espécie canina são doenças homólogas das Retinites Pigmentares (RP) Humanas. Embora muito diferentes no plano genético, elas assemelham-se clinicamente às manifestações oculares das RP na espécie humana. (Abitbola, Andréb, Queneyc, & Chaudieud, 2010)

É uma doença que se regista esporadicamente em todo o mundo e caracteriza-se pela perda progressiva de visão nocturna onde os homens são duas vezes mais afectados que as mulheres. As alterações patológicas iniciam-se à periferia da retina e ocorrem nas suas camadas mais externas. Às alterações no EPR, e na camada de cones e bastonetes, segue-se a atrofia das camadas celulares mais internas da retina. A coróide está geralmente atrofiada mas com uma distribuição normal de pigmento. Os vasos sanguíneos, incluindo artéria e veias, encontram-se atrofiados, em número reduzido e com sinais de degenerescência hialina em seu redor. As alterações no EPR são mais evidentes à periferia da retina e em algumas zonas este é substituído por acumulações de pigmento que prolifera para as camadas da retina subjacentes. Em regiões do fundo ocular onde normalmente não se encontra pigmentação, nomeadamente em redor do disco óptico, é possível verificar extensas áreas pigmentadas. No Homem, sintomas de perda progressiva da visão periférica e nictalópia que culminam em cegueira central e hemeralópia são semelhantes àqueles descritos para os cães. (Gould, Petersen-Jones & Sargan, 2002)

A RP compreende um grupo de doenças hereditárias da retina, geneticamente heterogéneo, caracterizado pela degenerescência progressiva dos fotorreceptores que culmina em morte destas células. No Homem, a RP pode ser herdada sob a forma autossómica recessiva, dominante ou associada ao cromossoma X (sendo esta última a forma menos prevalente). (Zeiss, Acland & Aguirre, 1999)

Progressos recentes da genética canina permitiram identificar os genes responsáveis pelas doenças hereditárias oculares caninas. Partindo da hipótese de que, no determinismo das retinites pigmentares (RP) humanas e das atrofias progressivas da retina (APR) nos cães se verificar que os genes são idênticos ou estão implicados nas mesmas vias metabólicas, então a espécie canina apresenta-se como constituindo um modelo espontâneo para a identificação de regiões cromossómicas e de genes implicados quer nas APR quer nas RP. (Abitbola, Andréb, Queneyc & Chaudieud, 2010)

7.5 Neurite do Nervo Óptico e Síndrome da Retina Silenciosa ou Degenerescência Súbita e Adquirida da Retina

Quando um canídeo se apresenta à consulta por perda súbita de visão, o clínico deve incluir obrigatoriamente na sua lista de diagnósticos diferenciais o Síndrome de Degenerescência Súbita e Adquirida da Retina e a Neurite do Nervo Óptico (papiledema).

Em ambas ocorrências a perda de visão é dramática, os cães apresentam-se midriáticos e o RPL está reduzido ou ausente. Na primeira situação a cegueira é bilateral, enquanto que na neurite do NO os reflexos que testam a visão podem estar presentes em ambos os olhos. (Riis, 2002)

O exame fundoscópico numa situação de neurite do NO revela edema do DO e protusão dos vasos sanguíneos sobre o disco óptico edemaciado. A retina pode estar descolada e elevada em redor da inserção do DO. Na Síndrome da Retina Silenciosa o exame fundoscópico é normal em estádios iniciais e progride para uma evidente hiperreflectividade tapetal. (Riis, 2002)

O Síndrome da Retina Silenciosa ou Degenerescência Súbita e Adquirida da Retina (DSAR) é uma doença de origem desconhecida que afecta, geralmente, cães de meia-idade a idosos e com alguma pré-disposição racial. Os sinais clínicos da DSAR incluem perda súbita da visão bilateral ou déficits visuais bilaterais que conduzem à perda completa de visão no curso de dias ou semanas e que é confirmada por ERG (ausência de ondas OU). Esta síndrome é frequentemente acompanhada por poliúria e polidipsia, polifagia e algumas vezes por nictalópia no período que antecede a cegueira súbita. (Montgomery, Woerdts & Cottrill, 2008)

Trata-se de uma alteração primária da camada de fotorreceptores onde ocorre apoptose do segmento externo dos cones e dos bastonetes. Os cães com DSAR apresentam-se à consulta de oftalmologia tipicamente midriáticos (em repouso), com RPL reduzido e podem apresentar hiperémia conjuntival moderada. O exame por oftalmoscopia directa e indirecta do fundo do olho realizado em cães que se encontram nos estádios iniciais da doença poderá ser normal. (Montgomery, Woerdt & Cottrill, 2008)

Num estudo realizado em dois hospitais de referência nos EUA durante o período de 2000 a 2006 (Montgomery, Woerdt e Cottrill, 2008) foram avaliados 140 casos de cães com amaurose, distribuídos duas populações distintas: aqueles com DSAR (120) e os que apresentavam doença neurológica (20), incluindo neurite do nervo óptico, neoplasia do quiasma óptico e cegueira de origem central (principais diagnósticos diferenciais de amaurose).

Neste estudo, o exame oftalmoscópico dos cães diagnosticados com DSAR (120) revelou: ausência de resposta de ameaça OU em 93% dos casos e 7 % apresentava resposta de ameaça inconsistente em um dos olhos ou OU. O RPL directo e consensual foi registado em 36% dos olhos e em 63% dos olhos estava ausente. A avaliação da PIO dos 160 olhos com DSAR revelou que 156 (98%) eram normotensos (<20 mmHg) e apenas 4 olhos apresentavam hipertensão ocular (>20 mmHg, um dos quais com PIO>30 mmHg que foi excluído do estudo). Outras alterações oculares registadas nos olhos de cães com DSAR foram: hiperreflectividade tapetal, hiperémia conjuntival, atenuação da vasculatura da retina, atrofia da íris, cataractas incipientes, distiquíases, queratite pigmentar e palidez do DO. ^{§§§}

O hemograma destes animais revelou: neutrofilia (18%), linfopenia (12%), leucocitose (10%) e trombocitose (10%). A urianálise revelou isostenúria em 8 de 24 cães com DSAR. Treze cães foram testados para a doença de Lyme e 4 (31%) apresentaram um resultado positivo.

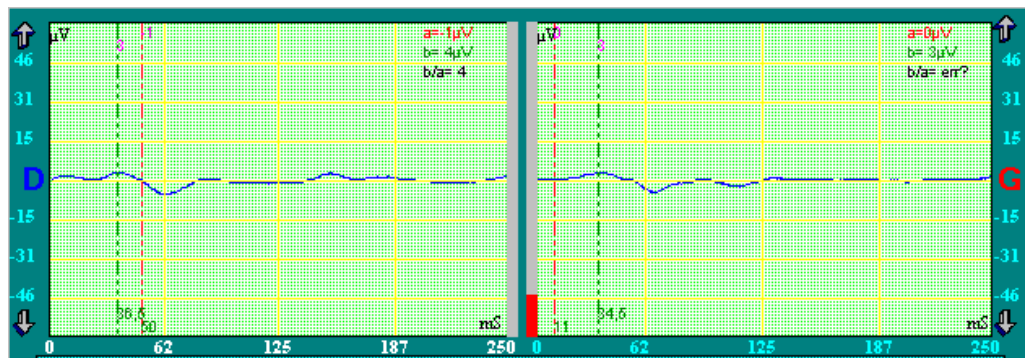
Quando foram avaliados parâmetros bioquímicos séricos a estes animais, foi frequente encontrar elevações das enzimas transaminases, fosfatase alcalina, colesterol, triglicéridos, proteínas totais e hiperglobulinémia, hipercalcémia, hiperglicémia e hiperfosfatémia. Uma elevação significativa dos parâmetros bioquímicos verificou-se para a fosfatase alcalina, colesterol e triglicéridos. Apesar 38% dos cães com DSAR de exibirem sinais de Hiperadrenocorticismos, os pacientes com DSAR são considerados sistemicamente saudáveis. (Montgomery, Woerdt & Cottrill, 2008)

Dadas as potenciais causas de doença nos pacientes que apresentam amaurose é fundamental diferenciar a DSAR de doença neurológica para que o tratamento adequado se possa instituir no segundo caso e se possa estabelecer um prognóstico. (Montgomery, Woerdt & Cottrill, 2008)

^{§§§} A idade e alterações degenerativas associadas à idade tais como: atrofia da íris, queratite pigmentar, distiquias (...) identificadas no estudos são provavelmente coincidências de achados.

A electroretinografia é a técnica à qual se deve recorrer para fazer o diagnóstico preciso de cegueira com origem na retina e diferenciar cegueira consequente a alterações das vias visuais. No ERG de um paciente com DSAR não é registada qualquer deflecção da linha de base, enquanto se espera que o ERG do paciente com neurite do NO ou alterações do SNC que comprometam a visão normal seja normal.

Fig. 15 - Exemplo de um ERG de campo total por flash realizado sob condições fotópicas usando flashes de luz de intensidade *standard* a um cão com história de perda súbita de visão. Imagem gentilmente cedida pelo Dr. Diogo Magno, HVR.



A ausência de curvas ao longo do traçado é compatível com uma situação de DSAR.

8. MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO DA RETINA E DAS VIAS VISUAIS.

8.1 Reflexo Pupilar à Luz

O reflexo de constrição da pupila na presença de um foco de luz incidente, denominado Reflexo Pupilar à Luz (RPL), é uma resposta nervosa cortical dependente de diversas estruturas que, funcionando em sinergia e na presença de um foco de luz incidente sobre o olho estimulam a miose. (Slatter, 2008)

Estas estruturas nervosas são:

- Retina
- Nervo óptico
- Quiasma óptico
- Área pré-tectal
- Núcleo parassimpático do 3º nervo craniano (NC III ou Nervo Oculomotor) onde ocorre sinapse com a fibra pupilomotora que estimula o músculo liso do esfíncter da íris a contrair. (Slatter, 2008)

Na maioria dos animais, a constrição da pupila do olho iluminado (RPL directo) é ligeiramente superior à do olho contra-lateral não iluminado (RPL indirecto ou consensual). Relativamente ao

momento em que o olho contralateral é iluminado (início do estímulo) verifica-se um atraso na resposta do olho iluminado e um atraso na resposta consensual. Este intervalo de tempo é denominado de *tempo de latência* e é de $133,3 \pm 5,3$ ms para o reflexo directo e $146,6 \pm 31,3$ ms para o reflexo consensual. (Grozdanic, Matic, Sakaguchi & Kardon, 2007)

Num trabalho realizado por Grozdanic e colaboradores (2007), a propósito do estudo da função da retina usando a avaliação do reflexo pupilar á luz cromática medido por pupilometria computarizada em cães saudáveis e com SARDS, foram obtidos os seguintes valores para o diâmetro pupilar em cães saudáveis:

- $8,3 \pm 0,6$ mm de diâmetro pupilar basal;
- $5,7 \pm 0,6$ mm de diâmetro pupilar em constrição (resposta directa) após *flash* de luz de elevada intensidade ($1,75 \log \text{ units}$, $56,6 \text{ cd/m}^2$);
- $6,0 \pm 0,6$ mm de diâmetro pupilar em constrição (resposta indirecta) após *flash* de luz de elevada intensidade ($1,75 \log \text{ units}$, $56,6 \text{ cd/m}^2$);

O RPL encontra-se diminuído ou ausente em diversas situações patológicas ou alterações congénito-hereditárias que envolvam qualquer uma das estruturas que o medeiam e/ ou são parte constituinte da íris. (Slatter, 2008)

Ou seja, além da presença de alterações patológicas em qualquer ponto da via visual, o RPL encontra-se diminuído ou ausente na atrofia da íris (relacionada com a idade), na isquémia da íris (resultante de glaucoma agudo), nas situações de obstrução da pupila (por exemplo por sinéquias ou deslocções do cristalino), iatrogénico (aplicação prévia de colírios midriáticos) ou ainda em animais assustados devido à presença de elevadas concentrações de epinefrina em circulação. (Slatter, 2008)

Posto isto, é fundamental ter em conta que o RPL é uma resposta subcortical e, para ocorrer, não requer que a retina esteja plenamente funcional. Um RPL positivo não é um indicador de visão ou de ausência de alterações retinianas. (Gelatt, 2007)

Contudo, a avaliação cromática do RPL é um teste essencial por dois motivos: permite diferenciar entre doenças da retina e do nervo óptico; permite identificar a localização precisa da lesão quando é possível associar o RPL aos achados da electroretinografia. (Grozdanic, Matic, Sakaguchi & Kardon, 2007)

Em cães com DSAR (diagnosticado por ausência de curvas no ERG) e noutros sem alterações oculares, a fim de caracterizar o RPL mediado por cones – bastonetes e o RPL mediado pela melanopsina das CGRif, foram comparadas através de um sistema computadorizado de pupilometria, as respostas pupilares à luz vermelha (630 nm), azul (480 nm) e branca de

diferentes intensidades (-0,29 a 5,3 log units) e duração variável. (Grozdanic, Matic, Sakaguchi & Kardon, 2007)

Em cães saudáveis espera-se detectar RPL com *flashes* luz vermelha ou azul de muito pequena intensidade (-0,29 log units; intensidade luminosa utilizada para testar a resposta dos bastonetes). Em cães com lesão dos bastonetes e função normal de cones, o RPL é bastante mais atenuado na presença de uma luz de fraca intensidade. Em cães sem actividade electroretinográfica para os cones e bastonetes (DSAR), a pupila reagiu apenas à incidência de luz azul (430 nm) de elevada intensidade (5,3 log units) e duração (5 s). Em cães com DSAR, a incidência de luz de 630 nm (vermelha) e intensidade variável entre os 3,47 e os 6 log units, não despoletou um RPL. (Grozdanic, Matic, Sakaguchi & Kardon, 2007)

Face a estes resultados, os autores do estudo colocaram a hipótese de que a presença de RPL observada nos cães com DSAR pode ser devida à actividade da melanopsina das CGRif, tendo em conta que o pico máximo de sensibilidade para a melanopsina é 480 nm (luz azul) e que em situações de ausência ou redução da actividade dos cones e bastonetes a RPL está reduzida e são as CGRif que sustentam a miose. (Grozdanic, Matic, Sakaguchi & Kardon, 2007)

8.2 Oftalmoscopia

O exame oftalmoscópico deve ser realizado numa sala escura e após aplicação de um colírio midriático (como a Tropicamida a 0,5 ou 1%). (Ofri, 2008)

Ao considerar a visualização do fundo ocular é fundamental ter em conta que estamos a observar uma série de tecidos sobrepostos e intercalados desde o vítreo até à esclera. A oftalmoscopia permite o exame detalhado desses diferentes tecidos que compõem o olho e de forma não invasiva. (Millichamp, 2001)

A oftalmoscopia directa fornece uma imagem pequena, de grande ampliação (aproximadamente 16x) e detalhe, comparativamente à imagem obtida por oftalmoscopia indirecta (ampliação de 4x). A oftalmoscopia directa é utilizada sobretudo para examinar a porção central do fundo do olho, em particular a região do DO. Contudo esta não é a opção adequada para observar a porção periférica da retina dos animais domésticos. (Gelatt, 2007)

A oftalmoscopia indirecta é feita através da utilização de uma lente de mão de 10 a 40D e uma fonte de luz suportada pela cabeça. Permite um exame mais completo, abrangente e rápido do fundo do olho. O examinador vê uma imagem invertida do fundo ocular, mas num grande campo visual. Qualquer lesão observada pelo oftalmoscópio indirecto deve ser reavaliada com o oftalmoscópio directo. (Beránek & Vít, 2007)

Normalmente é impossível examinar o fundo do olho de cachorros com idade inferior a duas semanas de idade porque as pálpebras permanecem encerradas até esta altura e a córnea é ainda muito pouco transparente. Pelas duas semanas de idade, quando as pálpebras abrem, não são detectadas diferenças entre a região tapetal e não tapetal. Nesta fase de desenvolvimento o fundo ocular tem um aspecto baço, cinzento escuro, o DO é pequeno e sem relevo sobre a retina. Os vasos sanguíneos, contudo, são identificáveis e de grande calibre. (Gelatt, 2007)

A evolução do desenvolvimento do fundo ocular é lenta e progressiva. No cão, entre as 7 e as 8 semanas de idade completa-se a diferenciação e maturação da retina, sobretudo dos fotorreceptores. Aos 3 - 4 meses de idade, o fundo ocular do cachorro apresenta a coloração e estrutura daquele de um indivíduo adulto. (Gelatt, 2007)

8.3 Tomografia Óptica de Coerência (TOC)

A TOC é uma técnica não invasiva que produz imagens bidimensionais e de elevada resolução de várias estruturas oculares tridimensionais. Muitas vezes é comparada à Ecografia em modo B. Contudo, na base da formação de imagens da TOC estão fenómenos de reflexão de luz em vez da geração de ultrasons. Comparativamente à ecografia convencional do segmento posterior do olho (resolução de aproximadamente 150 micrómetros), a utilização de luz permite criar imagens com elevada resolução espacial (na região dos 10 μm). A TOC baseia-se no princípio da interferometria de baixa coerência óptica, que mede o tempo de atraso da luz reflectida sobre as diferentes estruturas oculares, depois de projectado sobre si um feixe de luz infravermelha (aproximadamente 830 nm de comprimento de onda) criado por um diodo superluminescente em direcção vertical e horizontal, varrendo as suas estruturas. (Gekeler & al., 2007) (Fercher, Hitzenberger & Lasser, 2003)

A magnitude dos feixes de luz dispersa e da luz reflectida pela retina forma uma imagem bidimensional de cores "falsas". Variações nas características dos tecidos alvo, neste caso a retina, estão na base da reflectividade de diferentes intensidades luminosas e associadas à formação de imagens heterogéneas, falsamente coloridas. A manipulação destes dados por um software adequado permite quantificar a espessura da retina. Assim a TOC permite avaliar *in vivo* a espessura das estruturas da retina com elevada resolução, acuidade e repetibilidade, sem os artefactos inerentes à observação microscópica. Foi encontrada uma elevada correlação entre os achados da TOC e a histologia da retina, afirmando a TOC como um método útil para identificar estruturas tais como membranas epiretinianas, tracções vitreoretinianas, acumulação de fluido no espaço subretiniano e ou descolamentos

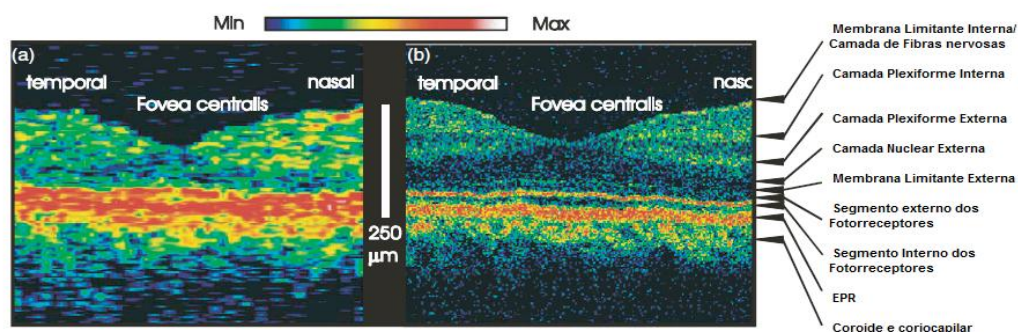
neurosensoriais da retina, descolamentos da retina, edema da retina, edema do disco óptico, colobomas do disco óptico, tumores da retina ou coroide, corpos estranhos intraoculares, entre outras patologias. Esta técnica permite igualmente detectar com sucesso alterações na espessura da camada de fibras nervosas da retina (importante na monitorização de pacientes com glaucoma) e medir a espessura da camada de fotorreceptores em situações de displasia ou degenerescência dos mesmos. (Gekeler & al., 2007) Não obstante, pode ser útil para obter imagens e medições correctas de estruturas da câmara anterior do olho, tais como o ângulo irido-corneal, íris ou córnea. (Fercher, Hitzenberger & Lasser, 2003)

Num estudo realizado em gatos (Gekeler & al., 2007) a espessura da retina variava entre as diferentes regiões que a compõem e é maior na região peripapilar, onde se concentram as CG que formam o NO. A *area centralis* foi a região onde se verificou uma espessura mais reduzida. Valores intermediários foram registados nas regiões periféricas da retina. A estrutura e organização do segmento ocular posterior do cão é muito semelhante à do felino. É razoável esperar resultados semelhantes de TOC nesta espécie.

Nos dias de hoje esta não é uma técnica com aplicação prática significativa em clínica e investigação veterinária pelos elevados custos a si associados. Contudo, é um método muito eficaz no diagnóstico das alterações da transição vitreoretiniana (Gekeler & al., 2007) e permite, graças à sua elevada resolução e profundidade de penetração, criar autênticas biopsias *in vivo* (ultrapassando as limitações da biopsia cirúrgica convencional, tais como dispersão de células cancerígenas, hemorragias e infecções). (Fercher, Hitzenberger & Lasser, 2003)

Dadas as crescentes exigências no campo da oftalmologia veterinária e a necessidade de diagnosticar e quantificar as doenças vitreoretinianas, a TOC poderá vir a desenvolver-se e com enorme benefício pois permite estabelecer um diagnóstico *in vivo* e de forma não invasiva, baseado na localização histológica precisa das lesões da retina.

Fig. 16 – Exemplo de TOC. Retina Humana. (adaptado de Fercher, Hitzenberger & Lasser, 2003)



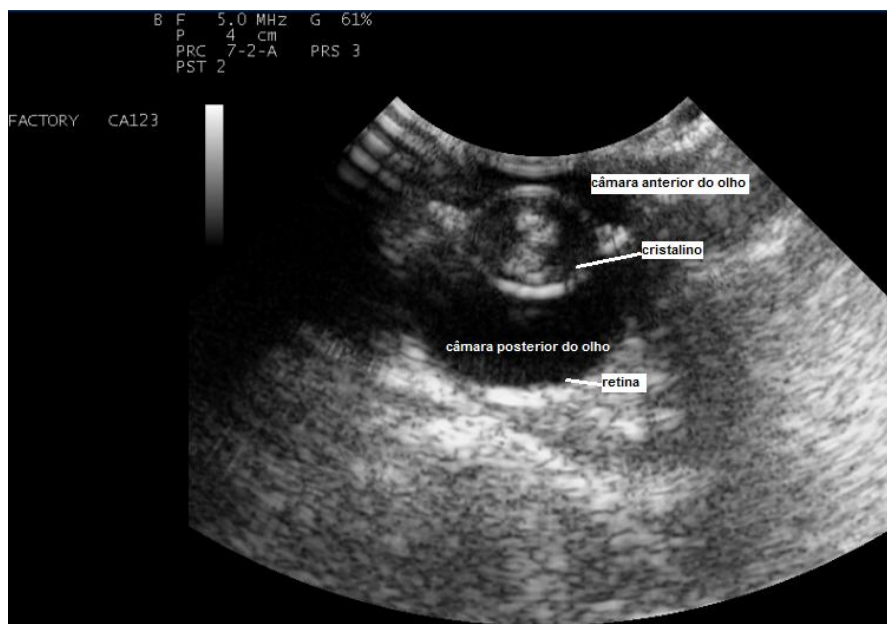
8.4 Ecografia ocular

A ecografia ocular utiliza feixes de energia acústica e respectivos ecos para localizar e quantificar tecidos de diferentes densidades dentro do globo ocular e da órbita. Para a sua realização é aconselhável utilizar sondas de frequência igual ou superior a 7.5 ou 10 MHz. É um exame indicado para o diagnóstico de patologias do segmento posterior do olho, nomeadamente descolamentos de retina, corpos estranhos e tumores intraoculares (ex. neoplasias da coróide ou próximas do corpo ciliar) ou intraorbitários. (adaptado de Gelatt, 2007 e de Beránek, 2007)

A sua realização é obrigatória antes da cirurgia de cataratas e sempre que a visualização da retina está comprometida pela opacidade das estruturas da câmara anterior do olho (ex. hifema) e cristalino (ex. cataratas), para garantir que não se verifica um descolamento da retina ou qualquer uma das outras situações atrás mencionada. Quando a opacidade da câmara posterior impede a observação com o oftalmoscópio, por exemplo em casos de hemorragia do vítreo, a ecografia ocular permite avaliar a integridade do segmento posterior do olho uma vez que os ultrasons penetram as células do sangue. Esta técnica também tem utilidade quando se pretende inspeccionar as estruturas moles que circundam o globo ocular. (Gelatt, 2007)

O modo B é preferível ao modo A porque permite uma melhor visualização e interpretação das imagens. (Gelatt, 2007)

Fig. 17 – Exemplo de ecografia ocular. Imagem gentilmente cedida pelo Dr. Diogo Magno, HVR.



8.5 Tomografia axial computadorizada (TAC) e Ressonância Magnética (RM)

A TAC e RM oferecem um vasto leque de possibilidades de diagnóstico particularmente úteis na avaliação das afecções da órbita (Beránek & Vít, 2007) e da integridade das estruturas do SNC onde ocorrem os fenómenos de visão.

Numa publicação de Seruca e equipa (2010) a propósito dos achados oftalmoscópicos, de exame neurológico e ressonância magnética apresentados por cães e gatos com perda aguda de visão devida a causas pós-retinianas, a RM foi encarada como o exame complementar de eleição para a avaliação destes pacientes. Comparativamente à TAC, a RM permitiu avaliar as lesões nas vias visuais retrobulbares e intracranianas com maior resolução, bem como formar uma imagem detalhada de todo o percurso das vias visuais, desde a abertura do canal óptico até ao lobo occipital, facilitando a identificação e caracterização morfológica das alterações.

A RM funcional com base nos níveis de oxigenação do sangue (*Blood oxygen level-dependent functional MRI*) é uma nova técnica imagiológica com elevada resolução espacial que permite aferir a actividade neuronal do cérebro. Esta técnica baseia-se no princípio de que o aumento da actividade no córtex cerebral, em resposta a um estímulo visual, conduz ao aumento da taxa metabólica neuronal suportada pelo aumento do fluxo sanguíneo a essa região. À medida que o aumento do fluxo de sangue excede o aumento da taxa metabólica e a velocidade a que o oxigénio é extraído da microvasculatura cerebral, verifica-se um aumento do *rácio* de hemoglobina oxigenada: desoxihemoglobina. A desoxihemoglobina é paramagnética e causa atenuação do sinal da RM. Assim, o aumento do *rácio* oxi:desoxihemoglobina leva a um aumento da frequência do sinal de RM em áreas onde a actividade neuronal aumenta. (Willis, Quinn, McDonell, Gati, Parent & Nicolle, 2001)

A RM funcional é um método de diagnóstico que permite avaliar causas de cegueira central (quando o exame oftalmológico e ERG são normais num paciente que se apresenta invisual) bem como a eficiência de tratamentos genéticos, tal como descrito por Aguirre e colaboradores (2007) em *Canine and Human Visual Cortex Intact and Responsive Despite Early Retinal Blindness from RPE65 Mutation* a propósito da transferência do gene RPE65 em cães mutantes e Homens com Cegueira Congénita ou Amaurose Congénita de Leber. (Aguirre et al., 2007)

8.6 Angiografia

A angiografia com fluoresceína é um método auxiliar no diagnóstico das retinopatias. Está indicado sobretudo na avaliação da evolução de patologias que envolvem a vascularização da retina, tais como anomalias vasculares, neoplasias do segmento posterior do olho, hipertensão,

descolamentos de retina, processos inflamatórios, retinopatias diabéticas e processos degenerativos. (Gelatt, 2007)

O exame consiste na administração intravenosa de um *bolus* de uma solução de fluoresceína a 10% seguido de fotografias seriadas do fundo do olho. Todas as fases da angiografia (estruturas vasculares da coróide; artérias da retina e junções arteriovenosas, veias da retina) podem ser fotografadas nos primeiros 15 segundos após a administração do contraste. (adaptado de Gellat, 2007). (Wakaiki et al., 2007)

A angiografia com Indocianina verde é largamente utilizada em Oftalmologia Humana na avaliação das estruturas vasculares da coróide. Em 2007, Wakaiki e seus colaboradores publicam o primeiro estudo comparativo da angiografia com fluoresceína e indocianina verde em cães. Concluíram que a angiografia com indocianina verde (1,0 mg/kg, i.v) permite uma clara visualização dos vasos da coróide enquanto que a fluoresceína se limita a corar os vasos da retina. A afinidade diferencial dos dois corantes para diferentes estruturas vasculares prende-se com a sua capacidade de ligação às proteínas do sangue. Cerca de 98% das moléculas de indocianina ligam-se às proteínas plasmáticas e assim impedem que o corante se difunda dos vasos da coriocapilar.

A fluoresceína, pelo contrário, tem fraca afinidade para as proteínas plasmáticas (aproximadamente 70%) e difunde-se rapidamente pelos capilares da coróide, ofuscando os seus detalhes. (adaptado de Gelatt, 2007 e de Wakaiki et al., 2007)

Os autores propõem o uso combinado de fluoresceína e indocianina verde para o diagnóstico de patologias complexas do fundo ocular, onde as alterações vasculares podem afectar a vasculatura de cada um dos tecidos ou de ambos. (Wakaiki et al., 2007)

8.7 Potenciais visuais evocados (PVEs)

Os potenciais visuais evocados, ou respostas visuais evocadas, são uma resposta eléctrica grosseira gerada ao nível do córtex occipital em resposta à estimulação visual. (Slatter, 2008)

O seu registo é uma onda que resulta da média de várias medições da resposta a estímulos visuais luminosos repetidos e registados por um eléctrodo colocado no escalpe. (Strain, Jackson & Tedford, 1990)

Trata-se de um conjunto de respostas de pequena amplitude (1 a 40 μ V) e a avaliação da latência das ondas registadas permite detectar (por exemplo em animais muito jovens) lesões subclínicas nas vias visuais bem como monitorizar o desenvolvimento e progressão dessas lesões. (Slatter, 2008)

Em oftalmologia veterinária os PVE testam não só à função visual central mas também do nervo óptico, das vias visuais superiores e córtex visual. (Slatter, 2008) Ou seja, é um método útil na avaliação da função das vias visuais pós-retinianas e pode complementar a electroretinografia quando se pretende avaliar as causas de cegueira num animal que se apresenta invisual e com um registo normal de electroretinografia, como discutido mais à frente.

9. ABORDAGEM AO PACIENTE INVISUAL: importância dos meios auxiliares de diagnóstico em oftalmologia e outros.

A cegueira pode ser provocada por lesões uni ou bilaterais em quatro localizações anatómicas distintas e por diferentes mecanismos fisiopatológicos: lesões que produzem opacificação dos meios oculares, lesões que incapacitam a retina de formar imagens, lesões que impedem a transmissão da mensagem ao longo das vias visuais ou lesões que impedem o processamento final da informação visual no córtex visual. (Seruca, Ródenas, Leiva, Peña & Añor, 2010)

Ao animal invisual deve ser feita uma abordagem sistémica mas a *anamnese* detalhada e a avaliação física e oftalmológica completas são os primeiros passos. A ERG é utilizada frequentemente para avaliar a função da retina. Quando não se verificam lesões oculares significativas e o traçado electroretinográfico é normal, a cegueira deve ser relacionada com processos patológicos localizados em qualquer região das vias visuais aferentes (cegueira pos-retiniana). Exames e técnicas de diagnóstico rotineiras, tais como um exame neurológico detalhado, exames bioquímicos serológicos e hemograma, avaliação do fluído cérebro-espinhal e despiste de determinados agentes infecciosos (tais como *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Ehrlichia canis*, Vírus da Esgana e *Cryptococcus neoformans*), poderão ser insuficientes para alcançar um diagnóstico ou localizar a lesão e há que recorrer a meios de diagnóstico por imagem. Em Medicina Humana, a RM é o meio de diagnóstico de eleição para detectar e caracterizar as lesões do CNS e das vias visuais que afectam a visão. (Seruca, Ródenas, Leiva, Peña & Añor, 2010)

III. ELECTRORETINOGRRAFIA

1. Breve introdução histórica à Electroretinografia

O primeiro estudo de electrofisiologia ocular foi realizado em 1865 por Fritiof Holmgren (Suécia). Foi pioneiro a medir o somatório dos potenciais de acção da retina após estimulação luminosa e o seu trabalho incidiu sobre olhos excisados de sapos. Alguns anos mais tarde Holmgren descobriu que, se em vez de colocar os eléctrodos sobre a córnea dos olhos excisados os colocasse sobre a retina, esta era a responsável pela geração dos potenciais eléctricos. (Narfstrom, 2002)

Holmgren verificou que, ao incidir um *flash* de luz sobre os olhos que estudou, despoletava um potencial eléctrico que podia ser registado ao longo do tempo. Este resultado foi constatado mais tarde por Dewar que, uma década depois de Holmgren (em 1877), mostrou que os mesmos potenciais eléctricos podiam ser registados a partir do olho intacto de um animal quando o eléctrodo de referência era colocado sobre a pele. Dewar foi o primeiro cientista a reportar a realização de electroretinogramas em Humanos, nos quais os eléctrodos de referência e de registo estavam conectados a um galvanómetro. (Narfstrom, 2002)

Em 1911 é publicado o primeiro estudo de electroretinografia em cães e gatos (Gelatt, 2007) e, em 1945 Karpe introduziu o ERG como uma técnica de diagnóstico de rotina em oftalmologia clínica, sendo um dos primeiros a enfatizar a importância do ERG como um meio objectivo para registar a actividade eléctrica da retina (Narfstrom, 2002) mas foi Granit quem deu a maior contribuição para a compreensão do registo electroretinográfico. (Rosolen, Koloniets, Varela & Picaud, 2008)

Em 1947, Granit escreve um artigo inovador sobre técnicas de ERG. Realizou um estudo extenso com técnicas de electroretinografia melhoradas que permitiram uma análise descritiva dos componentes do ERG e que é, ainda nos dias de hoje, uma referência na electroretinografia. (Narfstrom, 2002)

No ano de 1933, Granit elaborou um estudo sobre o registo electroretinográfico de gatos anestesiados com éter e concluiu o ERG era composto por três processos diferentes, que denominou PI, PII e PIII (reflectindo a ordem pela qual desapareciam do electroretinograma à medida que o nível de anestesia aprofundava). Mais tarde, PI, PII e PIII foram identificados, respectivamente, como as ondas *c*, *b* e *a* do electroretinograma moderno. (Rosolen, Koloniets, Varela & Picaud, 2008)

O estudo da electrofisiologia ocular nos animais domésticos começou muito provavelmente com o trabalho de Herbert B. Parry, em 1949, quando referiu os primeiros casos de APR no Setter

Irlandes. Ao suspeitar que esta alteração se devia a uma doença primária dos fotorreceptores, Parry prosseguiu com o estudo electroretinográfico de exemplares desta raça. Parry começou por estudar o ERG de cães saudáveis, estudando pela primeira vez os efeitos da adaptação ao escuro, luminosidade e variação do comprimento de onda da luz incidente nos traçados. (Ofri, 2002)(Parry, Tansley & Thomson, 1953)

Dez anos mais tarde, Lionel F. Rubin usou a electroretinografia de *flash* para estudar a atrofia dos fotorreceptores em três gatos cegos (publicado em 1963 em *Journal American Veterinary Medical Association* sob o tema *Atrophy of rods and cones in the cat retina*). Nesta publicação, Rubin não menciona qualquer informação sobre o procedimento (excepto que os gatos foram submetidos a anestesia e dilatação pupilar) ou equipamento utilizado. Em 1967 Rubin publica na mesma revista a primeira referência àquela que é, hoje em dia, a principal aplicação clínica de ERG: despiste de alterações retinianas em candidatos (sobretudo cães) a cirurgia de cataratas. (Ofri, 2002)

Um progresso significativo das técnicas de electrodiagnóstico visual foi conseguido quando a Sociedade Internacional para a Electrofisiologia da Visão iniciou o caminho para tornar *standard* as técnicas de ERG. (Narfstrom, 2002). Em 1989, Marmor e seus colaboradores publicaram as primeiras recomendações para a electroretinografia de campo total em humanos (*Standard for clinical electroretinography*, *Archives of Ophthalmology*) a fim de criar um protocolo e regulamentar os resultados para que as respostas pudessem ser registadas e comparadas em todo o mundo, facilitando a interpretação por laboratórios e clínicos. (Marmor & Zrenner, 1999) Este documento, editado pela primeira vez em 1989, sofreu actualizações em 1994, 1999 e 2004.

Durante a última década tornou-se óbvia a necessidade de criar um documento semelhante que protocolasse a electroretinografia em Medicina Veterinária. Foi então que o Colégio Europeu de Oftalmologia Veterinária (ECVO – *European College of Veterinary Ophthalmologists*) cria uma comissão para elaborar um documento com estas referências e recomendações para a electroretinografia em cães e gatos. Em 2002 são publicadas na *Documenta Ophthalmologica* as primeiras *guidelines* para a electroretinografia no cão (que se estende ao gato) aprovadas em 2000 na primeira Conferência Europeia sobre Electrofisiologia Visual Veterinária em Viena de Austria. (Narfstrom, 2002)(Narfström et al., 2002)

Neste documento, *Guidelines for clinical electroretinography in the dog* (2002), são descritos dois procedimentos electroretinográficos. Um deles corresponde ao modelo de exame rápido utilizado para determinar se existe ou não resposta da retina. Trata-se de um *protocolo curto*, de resposta positiva ou negativa, utilizado sempre que se pretende fazer cirurgia de cataractas ou

o diagnóstico de doenças específicas que levam á cegueira no cão, tais como a Degenerescência Súbita Adquirida da Retina (DSAR). (Narfström et al., 2002)

O segundo modelo de ERG, *protocolo de diagnóstico*, é mais complexo e utilizado como meio auxiliar no diagnóstico de retinopatias generalizadas, geralmente hereditárias, ou para caracterizar retinopatias de origem desconhecida. (Narfström et al., 2002)

Ambos serão descritos de forma mais pormenorizada ao longo desta dissertação.

2. Aplicações práticas da Electroretinografia

No cão, e em muitas outras espécies, a avaliação subjectiva da função da retina não é ainda possível. Vários estudos clínicos e experimentais têm vindo a provar a eficácia da electroretinografia como um método que testa objectivamente a função da retina. (Narfström et al., 2002) (Komaromy, Smith & Brooks, 1998).

A electroretinografia (ERG) é uma técnica não invasiva que permite registar a actividade electrofisiológica da retina com base na indução da variação dos potenciais de acção das suas células, em resposta a um estímulo luminoso, num animal anestesiado. (Ofri, 2006) (Komáromy, Brooks, Dawson, Källberg, Ollivier & Ofri, 2002)

Os registos electroretinográficos têm servido para expandir o nosso conhecimento e compreensão da anatomia e fisiologia do sistema visual, para estudar os processos fisiopatológicos das doenças oculares e para melhorar a capacidade de diagnóstico e terapêutica dos oftalmologistas. (Ofri, 2002)

Estão descritas na literatura várias modalidades de electroretinografia, usadas com objectivos distintos. Contudo, nem todas têm aplicação em Medicina Veterinária. Muitas requerem equipamentos dispendiosos, são tecnicamente complexas, dependem da cooperação do doente ou disponibilizam resultados de difícil interpretação.

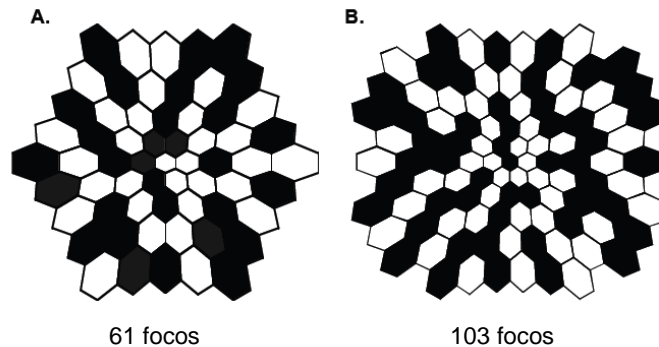
2.1 - ERG multifocal (ERGm)

Permite avaliar e identificar alterações retinianas localizadas num campo de 40 a 50°, que cobre aproximadamente 25% da população total de cones. Por isso, o ERGm tem uma enorme importância na exploração da mácula em Humanos. (Rosolen, Kolomiets, Varrela & Picaud, 2008)

No ERGm a actividade eléctrica de várias regiões da retina é registada sob condições fotópicas e é essencialmente uma resposta de cones. O estímulo é um padrão de 61 a 103 focos de luz, semelhante a um tabuleiro de xadrez, onde o tamanho das quadrículas brancas e pretas

umenta com a distância ao centro da retina. Ao avaliar a actividade electrofisiológica de uma região da retina em particular, o ERGm permite uma caracterização topográfica da sua funcionalidade. (adaptado de Hood et al., 2007, e de Rosolen, Kolomiets, Varrela & Picaud, 2008).

Fig. 18 - Representação hexagonal de um ensaio de ERG multifocal.



Esta técnica requer que o paciente fixe voluntariamente um ponto num determinado alvo visual e por isso é inadequada para pacientes cegos e animais. (Gelatt, 2007)

2.2 - ERG de campo total com *flash* (ERGf)

É uma técnica que avalia a resposta em massa das células da retina a um estímulo luminoso e reflecte a actividade e integridade dos fotorreceptores e das camadas celulares com as quais contactam (porção externa da retina, camada nuclear interna e, dependendo da técnica, o epitélio pigmentar da retina). (Gelatt, 2007) Dada a relativa facilidade com que se processa esta técnica e o benefício dos seus resultados para o diagnóstico e prognóstico das patologias dos fotorreceptores e de outras células da retina, esta é a técnica de ERG mais amplamente difundida na prática Clínica de Oftalmologia Veterinária.

O ERGf é utilizado de forma rotineira e em associação com outros exames oftalmológicos na avaliação pré-cirúrgica dos pacientes candidatos a extração de cataratas, no diagnóstico de retinopatias onde não são observáveis alterações fundoscópicas (ex. estádios iniciais de APR, DSAR, hemeralópia do Malamute do Alaska) e retinopatias tóxicas. (Ropstad & Narfström, 2007) (Ofri, 2006)

O seu contributo é igualmente indispensável à diferenciação de causas retinianas e pós-retinianas de cegueira. Por exemplo, a apresentação à consulta de um cão com história de cegueira aguda e exame oftalmoscópico sem alterações visíveis e em midríase persistente é altamente sugestiva de duas situações: DSAR (causa retiniana de cegueira) ou de Neurite do Nervo Óptico (causa pós-retiniana de cegueira). (Ofri, 2006)

A electroretinografia também tem aplicação no diagnóstico precoce de atrofas hereditárias dos fotorreceptores. Em algumas raças de cães^{****}, a ERG é a melhor técnica para detectar alterações da função retiniana, mesmo antes de se verificarem alterações oftálmicas ou comportamentais compatíveis com perda de visão. (Ofri, 2006)

A ERGf permite averiguar precocemente se os fotorreceptores atingem a maturidade funcional e vão morrendo progressivamente, se têm um desenvolvimento anormal ou se o processo de fototransdução é irregular. Quando a função dos fotorreceptores é regular antes da morte destas células, a amplitude das ondas registadas é normal numa determinada etapa da vida do animal. À medida que os fotorreceptores sofrem degenerescência, o acompanhamento electroretinográfico destes animais identifica uma redução progressiva na amplitude das ondas registadas que mantêm a sua forma ao longo do processo. Se se tratar de uma alteração nos mecanismos de fototransdução, o contorno das *ondas a* e *b* (como veremos posteriormente) pode estar alterado. Para que o ERGf seja útil na investigação e diagnóstico de distrofias e degenerescências da retina deve ser realizado numa fase precoce do desenvolvimento da doença, quando ainda não se desenvolveram sintomas ou alterações fundoscópicas compatíveis com perda de visão, e deve ser repetido à medida que a doença progride. (Peterson-Jones, 2005)

Ou seja, o ERGf é necessário e deve ser realizado naqueles animais cuja raça os torna predispostos para determinadas afecções oculares hereditárias. É uma técnica particularmente útil para estabelecer um diagnóstico atempado das doenças degenerativas da retina e permite identificar diferencialmente as respostas isoladas dos cones e dos bastonetes. Permite também identificar precocemente se estes animais são ou não afectados por retinopatias hereditárias progressivas e alertar o criador para a necessidade de impedir que os seus progenitores e eles próprios sejam reproduzidos.

O Cão, com a sua relativa abundante diversidade natural, pode ser portador de diversas distrofias da retina que se manifestam, muitas vezes, de forma semelhante às Humanas. Este fenómeno torna o Cão como a espécie modelo para algumas doenças da retina e a espécie alvo para a investigação de diferentes modalidades terapêuticas. (adaptado de Mentzer et al., 2005)

Os animais, e o Cão em particular, desempenham um papel fundamental e insubstituível na investigação oftalmológica e no desenvolvimento e aperfeiçoamento de técnicas de diagnóstico em oftalmologia. Contudo, na maioria das situações, estes não são os beneficiários ou o objectivo último desse processo mas a aplicação da ERGf nestes modelos biológicos de muitas

^{****} Poodle, Cão de Água Português, Cocker Spaniel Americano e Inglês são exemplos.

retinopatias em Humanos tem um valor inestimável.

A ERG e os PVE oferecem informação útil, individual e *in vivo* sobre a segurança, eficácia, dose e efeitos secundários de fármacos com aplicação ocular e outros. (Brigell, Dong, Rosolen & Tzekov, 2005)

A título de exemplo e para realçar a importância da ERGf nos estudos toxicológicos, é feita referência ao estudo de Maehara e colaboradores (2005a) que registaram ERGf antes e durante a administração de digoxina em doses terapêuticas a Beagles saudáveis.

Os autores verificaram uma redução na resposta ao *flicker* de 30 Hz com luz azul, sugerindo que os cones com absorção máxima para o azul são ainda mais sensíveis à digoxina (tal como verificado em estudos anteriores referidos pelos autores) e que são registadas alterações electroretinográficas na resposta dos cones mesmo quando a suplementação dos cães com digoxina é feita com doses terapêuticas, sem outras manifestações de intoxicação. (Maehara et al. 2005a)

A digoxina é um glicosídeo cardíaco utilizado em situações de insuficiência cardíaca congestiva que actua por inibição das $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPases. Contudo, este fármaco não é selectivo e afecta igualmente o funcionamento de $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPases em outros tecidos, nomeadamente a retina, ao nível das células fotorreceptoras. A digoxina vai bloquear as $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPases inibindo a corrente escura provocando alterações na visão nocturna. Com este estudo, e de acordo com outros anteriores referidos pelos autores, foi possível concluir que os cones são mais sensíveis à digoxina que os bastonetes e aqueles com absorção máxima para a luz azul são mais afectados por este fármaco mesmo quando são administradas doses terapêuticas de digoxina. (Maehara, 2005a)

3. Aspectos Técnicos da Electroretinografia

3.1 Constituição da unidade de electroretinografia

Dois componentes fundamentais para a realização do ERGf são os sistemas de estimulação luminosa (fotoestimulador) e de registo. (Honsho, Oriá, Júnior, Neto e Laus, 2004)

O fotoestimulador consiste geralmente numa lâmpada de xénon que emite *flashes* de luz branca (ou azul) que vão incidir sobre o olho e estimular a retina. (Komaromy, Smith & Brooks, 1998)

3.2 Difusores de luz e Fotoestimuladores

O fotoestimulador deve emitir feixes de luz de comprimento de onda, intensidade e duração conhecidos. Conhecem-se pelo menos 3 tipos de fotoestimuladores:

- difusores ópticos, com lâmpadas estroboscópicas (que produzem *flashes* regulares de luz) colocados em frente do paciente a 20 – 30 cm de distância dos olhos;
- eléctrodos de córnea com lâmpadas de LED, que se aplicam directamente sobre a córnea;
- a esfera ou estimulador *ganzfeld* (adaptado de Honsho, Oriá, Júnior, Neto & Laus, 2004)

Em 1995, Narfström, Andersson, Adreasson e Gouras publicam um estudo sobre o ERG de cães realizado com estimulação total do campo visual (do alemão *ganzfeld*) e as vantagens da sua aplicação no estudo da função dos cones e bastonetes.

A esfera *ganzfeld* é uma cúpula semi-circular com aproximadamente 60 cm de diâmetro onde se insere a cabeça do animal e que contém um dispositivo interno que emite e distribui *flashes* de luz para efeitos de estimulação da retina. (Ofri, 2002)(Narfström, Andersson, Adreasson & Gouras, 1995)

Sendo o ERGf um método de registo de potenciais evocados pelas células da retina, espera-se que esta técnica consiga registar a actividade eléctrica da maior parte de células da retina possível. É portanto fundamental que o fotoestimulador permita obter uma iluminação uniforme e difusa da totalidade da retina (Rosolen, Kolomiets, Varela & Picaud, 2008)

Através da esfera *ganzfeld* a fotoestimulação total da retina é conseguida com uma fonte de luz incorporada no interior da cúpula e por um mecanismo que permite a distribuição uniforme da iluminação no seu interior e, por conseguinte, sobre os olhos (minimizando o inconveniente da distribuição desigual de luz sobre a retina). (Gelatt, 2007)

Por estes motivos, em 2002, quando foram publicadas as primeiras recomendações do ECVO para o diagnóstico e diferenciação de retinopatias em cães e gatos através de electroretinografia, a estimulação luminosa tipo *ganzfeld* ou de campo total foi sugerida.

É importante ter em conta que a energia luminosa do feixe de luz emitido pelo difusor *ganzfeld* deve ser medida na superfície da esfera *ganzfeld*, ao nível dos olhos, e não na fonte. (Narfström et al., 2002)

Quer as lâmpadas estroboscópicas quer os diodos de LED não permitem uma iluminação uniforme da totalidade da retina. Ao incidir a luz sobre a retina produzem apenas uma estimulação focal da porção do fundo ocular sobre a qual incide o feixe de luz. À periferia deste foco o estímulo luminoso que atinge as restantes porções da retina é mais fraco e deve-se apenas à luz dispersa. Consequentemente, a resposta eléctrica gerada em diferentes porções da retina não é uniforme e ocorre a diferentes amplitudes e espaçadas no tempo. (Gelatt, 2007)

Maehara (2005) e seus colaboradores publicaram um estudo sobre a utilidade dos eléctrodos de córnea com uma fonte de luz LED de cor branca incorporada, associados a um aparelho de ERG portátil (LE-3000; combina uma fonte de estímulos luminosos, um amplificador e um

registador). Nesta publicação foram apontados alguns defeitos à esfera *ganzfeld*:

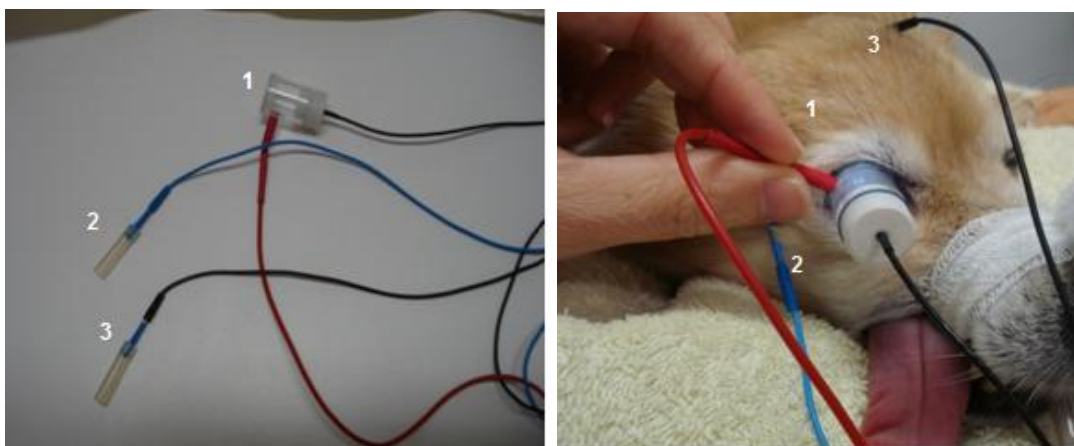
- é um sistema dispendioso e volumoso, de difícil instalação;
- a estimulação bilateral e registo dos resultados é difícil;
- o posicionamento dos animais para realizar o ERG é difícil;
- as pálpebras do cão deve ser mantidas sempre abertas durante o procedimento;
- a cabeça do cão tem que ficar mantida no interior da esfera *ganzfeld* com 60 cm de diâmetro. (Maehara & al., 2005)

Por todos estes inconvenientes, o sistema *ganzfeld* convencional é de difícil implementação em Hospitais Veterinários. (Maehara & al., 2005)

O eléctrodo de LED possui 3 a 4 diodos de elevada intensidade luminosa que permite criar as mesmas condições que a esfera de *ganzfeld* quando colocado sobre a córnea e é uma alternativa mais prática (em termos de facilidade de utilização e espaço) e económica ao sistema de *ganzfeld*. O eléctrodo de córnea com os diodos de LED incorporados permite manter as pálpebras abertas ao mesmo tempo que protege a córnea. Uma vez que os eléctrodos positivos com diodos LED incorporados são colocados directamente sobre a córnea e acompanham os movimentos do olhos, este tipo de electroretinografia pode ser realizado apenas sob sedação ligeira, evitando a anestesia geral. (Maehara & al., 2005)

Ao contrário da esfera *ganzfeld*, onde a fonte de luz é externa, os *flashes* de luz são disparados directamente sobre a córnea a partir dos eléctrodos de LED. (Maehara & al., 2005)

Fig. 19 - Exemplo de um conjunto de eléctrodos de ERG.



1. Eléctrodo de Córnea com LED incorporado; 2. eléctrodo agulha de referência; 3. eléctrodo agulha terra (ambos do tipo agulha).

Ao contrário do sistema *ganzfeld*, que requer calibração do estímulo luminoso antes de cada ERGf, o sistema de eléctrodo de córnea com diodos LED incorporados e adaptado a um *software* é calibrado automaticamente. (Maehara & al., 2005)

Os autores do estudo concluíram que utilizando eléctrodos LED é possível realizar electroretinografias de forma mais quantitativa e reproduzível, permitindo também avaliar a progressão da doença e o efeito da terapia. Com este equipamento, além de *flashes* de luz branca também é possível usar LED azul, vermelho ou verde. (Maehara & al., 2005)

Em 2005, durante o encontro do ACVO em Nashville (USA) é feita a apresentação de um equipamento de ERG portátil multi-espécies (HM_sERG) desenvolvido por Kristina Narfström, juntamente com uma equipa de engenheiros (Linscan Ultrasound Inc., MO, USA), e comercializado pela RetVet.

Este equipamento portátil é recarregável e permite registar quer ERGf quer PEV através de um fotoestimulador *mini-ganzfeld* com lâmpadas de LED incorporadas, adaptável a qualquer computador. É apropriado para realizar ERGs em qualquer espécie animal e em situações clínicas ou laboratoriais. (www.retvetcorp.com)

Foram desenvolvidos dois estudos com este novo equipamento (HM_sERG): o primeiro com gatos em diferentes estádios de degenerescência dos bastonetes-cones; o segundo em cães de raça Springer Spaniel Inglês com APR. De ambos é possível concluir que:

- o HM_sERG permite obter resultados consideravelmente semelhantes aqueles obtidos pela esfera *ganzfeld* em animais saudáveis e afectados.
- quando são utilizados os procedimentos *standard* para a realização do ERG, o HM_sERG permite obter diagnósticos viáveis e resultados reproduzíveis.

A utilização de difusores oculares, tais como lentes de contacto opalescentes, não são recomendadas pelo ECVO. Este tipo de estimuladores dificulta a distribuição do feixe de luz de intensidade constante sobre a totalidade da retina (aspecto a ter em conta no diagnóstico de alterações generalizadas dos fotorreceptores que poderão apresentar uma distribuição regional no fundo ocular, muitas vezes poupando regiões centrais da retina em estadios iniciais da doença). (Narfström et al., 2002)

A duração do estímulo luminoso (*flashes* de luz) não deve durar mais de 5 milissegundos. A estimulação uni ou bilateral pode ser utilizada quando são avaliadas degenerescências hereditárias da retina (uma vez que, nos cães, estas doenças são bilaterais e o envolvimento de ambos os olhos ocorre aproximadamente nos mesmos estádios de evolução da doença). (Narfström et al., 2002)

Nas recomendações do ECVO está indicada a utilização de luz branca quer para a estimulação da retina quer para adaptação à luz de fundo. Contudo, os autores dessas mesmas referências reconhecem que para determinados fins e a nível laboratorial pode ser utilizada luz colorida, quer para a estimulação da retina quer para a sua adaptação à luz. Essas condições de teste

devem ser consideradas adicionais às recomendações *standard* e não devem substituí-las.

3.3 Preparação do Paciente

A preparação do cão deve ser conduzida numa sala com luz ambiente, tendo o cuidado de evitar a exposição prévia a luzes fortes e respeitar os ajustes ao protocolo de adaptação ao escuro caso o cão tenha sido submetido a fotografias do fundo ocular, angiografia com contraste de fluoresceína ou ouftalmoscopia indirecta.

3.3.1 Dilatação da Pupila

As pupilas devem estar totalmente dilatadas ao longo de todo o exame e é importante que o seu grau de midríase seja avaliado durante o início e fim do exame. (Narsftöm & al., 2002). A aplicação tópica de uma gota de Tropicamida a 1% OU com 15 min. de intervalo entre aplicações (Oriá, Júnior, Honsho, Neto & Laus, 2004)((Mentzer, et al., 2005) de um colírio de Atropina a 0,5% e de Fenilefrina a 10% (Narfström, Andersson, Andreasson & Gouras, 1995) ou mesmo de Tropicamida 0,5% e Fenilefrina 0,5%. (Maehara et al., 2005).

Durante o decorrer do exame as pálpebras devem permanecer abertas (através de um blefarostato, por exemplo) e é importante proteger a córnea com uma solução não irritante, por exemplo metil - celulose a 0,5% (Narfström et al., 2002) ou a 2,5%. (Mentzer et al., 2005)

Há que ter em conta que soluções demasiado viscosas (por exemplo de concentração de metilcelulose superiore a 2,5%) podem atenuar a amplitude do sinal. (Marmor & Zrenner, 1999)

É igualmente importante que o globo ocular permaneça imóvel. É recomendável dar quatro pontos de fixação na conjuntiva do limbo esclero-corneano (medial, lateral e dorsal) seguros por pinças hemostáticas (Narfström et al., 2002) (Mentzer et al., 2005) ou optar por um outro método igualmente eficiente, tal como a administração de fármacos relaxantes neuro-musculares (ex. Brometo de Vecuronium, 40µg/kg iv, dose inicial, seguida de infusão contínua lenta aprox. 400µg/kg/hr) (Yanase, Ogawa & Ohtsuka, 1995) ou injeccção retrobulbar de uma solução salina fisiológica e estéril (Narfström, Andersson, Andreasson & Gouras, 1995 e Ropstad & Narfström, 2007). Esta última técnica pode provocar um aumento transitório da PIO que pode ter efeitos deletérios sobre o ERG. (Gelatt, 2007)

3.3.2 Pré medicação anestésica e anestesia

Se o objectivo for realizar o protocolo *standard* (longo), a sedação é insuficiente para manter os cães estáveis e imobilizados ao longo do processo e evitar os artefactos associados ao movimento muscular involuntário. Os cães devem portanto ser submetidos a anestesia geral e

deve ser assegurada uma ventilação correcta e manutenção de temperatura corporal entre os 38-39 °C. (Narfström& al., 2002)

Após indução da anestesia o cão deve ser colocado em decúbito esternal e sobre uma almofada, cobertor ou esponja isolante térmica e eléctrica.

A escolha de anestésico influencia os resultados do ERGf. Contudo, há que ter em conta que, a quantidade e tipo de artefactos que pode surgir no electroretinograma induzidos pelo anestésico utilizado são reduzidos e implicam menor interferência sobre a sua interpretação, comparativamente com aqueles provocados pelo movimento de um animal consciente. Para minimizar o impacto do anestésico sobre o electroretinograma é importante que o clínico seja consistente e constante no protocolo anestésico que utiliza para esse efeito.

Os efeitos da anestesia sobre o traçado do ERGf apresentam-se, geralmente, sob a forma de redução da amplitude das ondas e aumento do TL das respostas dos cones e bastonetes. (Gelatt, 2007)

Quer na utilização do ERG com fim de diagnóstico clínico quer na investigação e comparação de resultados, é desejável estabelecer um protocolo anestésico seguro e padronizável, que imobilize tanto quanto possível o globo ocular, não altere a PIO, permita uma anestesia segura e, sobretudo, que interfira o menos possível no registo do ERG, nomeadamente no tempo de latência e amplitude das suas curvas.

Vários estudos têm sido desenvolvidos com o objectivo de avaliar o impacto de diferentes fármacos sedativos e anestésicos sobre o traçado de ERG.

O ECVO, através das *Guidelines for clinical electroretinography in the dog*, não recomenda um protocolo de sedação ou anestesia. Cabe ao clínico decidir qual é a combinação pré – anestésica e anestésica que melhor se adequa ao animal em questão. Sempre que possível, o clínico deverá seguir o mesmo protocolo anestésico de forma sistemática a fim de tornar possível a reproducibilidade dos resultados, dada a influência que estes fármacos têm sobre a transmissão nervosa na retina e o registo electroretinográfico, e tornar mais fácil a comparação dos registos com aqueles estipulados como normais para o mesmo aparelho, usando a mesma técnica, nas mesmas condições ambientais e com o mesmo protocolo anestésico.

A título de exemplo é feita referência a alguns dos protocolos anestésicos descritos e utilizados nos estudos referidos.

Närfstrom e outros (1995), em *Clinical electroretinography in the dog with ganzfeld stimulation* referem que os cães neste estudo foram submetidos a anestesia geral com Halotano antecedida de indução anestésica com tiopental sódio (2,5%), iv.

No Hospital Veterinário Escolar da Universidade da Florida (Komaromy, Smith e Brooks, 1998)

o ERGf dos candidatos a cirurgia de cataratas é feito sob sedação com maleato de acepromazina (0,02 mg/kg; iv) e butorfanol (0,2 mg/kg; iv). A anestesia geral só é praticada se for necessário realizar um protocolo mais longo para avaliar alterações na camada celular mais interna da retina.

Honsho, Oriá, Júnior, Neto e Laus (2004) administram levomepromazina (1mg/kg; iv) como pré-anestésico e antes do período de adaptação ao escuro de 30 min. Só então administram uma combinação de tiletamina e zolazepam por via endovenosa (Zoletil, Virbac Brasil) numa dose de 5 mg/kg para obter uma anestesia do tipo dissociativo.

No estudo sobre a utilidade de eléctrodos de córnea com fontes de luz LED incorporadas, Maehara e outros colegas Japoneses (2005) realizaram ERGf sob sedação com uma combinação de medetomidina (Domitor; 0,01 mg/kg), midazolam (Dormicam; 0,15 mg/kg) e butorfanol (Stadol; 0,025 mg/kg) administradas iv. Os autores consideraram que a administração desta associação tripla após o período de adaptação ao escuro foi suficiente para atingir um bom grau de sedação e relaxamento muscular durante todo o processo, desprezando a necessidade de anestesia geral.

Em 2007, Kommonen, Hyvätti e Dawson publicaram um artigo sobre o efeito do Propofol no traçado de ERGf de 6 cães da raça Beagle. Neste estudo foi utilizado o brometo de glicopirrolato (10 µg/kg, im) 10 min. antes da administração de propofol em dose de indução anestésica (6 mg/kg, iv) e seguiu-se a infusão contínua de propofol à taxa de 38 mg/kg/h. Esta taxa foi suficiente para produzir um grau de anestesia e relaxamento que permitisse a realização dos ERGs. A ventilação foi assistida mecanicamente e o bloqueio dos músculos do globo ocular conseguido pela administração de vecuronium (0,2 mg/kg em bolus iv seguido de infusão contínua a 0,3 mg/kg/h), cuja acção foi revertida pela acção do glicopirrolato e neostigmina (injectados antes da remoção do tubo endotraqueal).

Na retina existem vários tipos de receptores GABA ionotrópicos: GABA_A e GABA_C (abundantes na camada plexiforme interna) e GABA_B. Os receptores GABA_A medeiam o efeito inibitório da neurotransmissão. Os GABA_B, em particular, influenciam a sinalização das células bipolares para as células amácrinas e células ganglionares. Os efeitos dos anestésicos nos receptores GABA_A são dependentes da concentração. Concentrações baixas de anestésicos GABA – activos potenciam correntes submáximas induzidas pelo GABA. Concentrações mais elevadas levam à abertura dos canais na ausência de GABA e mesmo em concentrações ainda mais altas, alguns anestésicos inibem a corrente. (Kommonen, Hyvätti & Dawson, 2007)

Os autores referem um estudo que comprova a capacidade do propofol potenciar o efeito do GABA (ácido gamma aminobutírico) sobre os receptores GABA_A presentes, entre outros locais,

nas células da retina.

Nesta publicação os autores reportam um aumento reversível mas significativo da amplitude da *onda b* após administração de propofol. A amplitude da *onda b* electroretinográfica aumenta significativamente após incremento da taxa de infusão de propofol e diminui com a sua redução. (Kommonen, Hyvätti & Dawson, 2007)

Partindo do princípio que a *onda b* resulta de potenciais gerados nas células bipolares, os autores acrescentam que a via visual escotópica é influenciada directa ou indirectamente pela dose de propofol. (Kommonen, Hyvätti & Dawson, 2007)

O pico de amplitude da *onda a* também aumentou após incremento da taxa de administração de propofol em 5 dos 6 cães avaliados (Kommonen, Hyvätti & Dawson, 2007)

Os resultados deste estudo demonstram que o propofol passa rapidamente pela barreira hemato – retiniana e aumenta a excitabilidade celular pós-receptorial, provavelmente por interferir com os efeitos mediados pelo GABA nas funções de controlo dos neurónios da camada interplexiforme interna e de outras células da camada interna da retina. Assim, a variação directamente proporcional da amplitude da *onda b* com o aumento ou redução da taxa de infusão de propofol é justificada pela sensibilidade das células pós-receptorais (possivelmente das células interplexiformes e amácrinas) à concentração deste fármaco. (Kommonen, Hyvätti & Dawson, 2007)

Norman, Barret e Narfström (2008) publicaram a propósito do efeito sobre o ERG de um alfa – 2 agonista (medetomidina; Domitor Pfizer) na dose iv *standard*. Estes concluíram que, para todas as intensidades de luz estimulante utilizadas no estudo, a medetomidina prolongou significativamente o TL e reduziu a amplitude da resposta das *onda a* e *b* nos 25 cães saudáveis que serviram de cobaia. Os autores não recomendam a administração de medetomidina em cães candidatos a electroretinografia. (Norman, Barret e Narfström, 2008)

Em 2009, na *Documenta Ophthalmologica*, é publicado um artigo da autoria de Jeong, Narfström, Park, Chae e Seo sobre um estudo onde é feita a comparação entre três combinações anestésicas sobre o traçado electroretinográfico de 12 cães. As combinações anestésicas estudadas e respectivas doses foram as seguintes:

- 1) pré-medicação anestésica com sulfato de atropina (0,04 mg/kg; sc); indução com tiopental sódico (15 mg/kg; iv) e manutenção com isoflurano;
- 2) tranquilização com medetomidina (Domitor; 60 µg/kg, im) e anestesia com quetamina (5mg/kg; im).
- 3) pré-medicação anestésica com sulfato de atropina (0,04 mg/kg; sc); tranquilização com xilasina (Rompum; 2,2 mg/kg, im) e anestesia com quetamina (11mg/kg, im).

O protocolo de ERGf instituído foi realizado de forma idêntica em todos os cães e para as mesmas combinações farmacológicas. Foram obtidos traçados de electroretinografia estáveis e viáveis para as três variantes de anestesia, indicando que qualquer um dos protocolos anestésicos pode ser utilizado no registo de ERGs para fins clínicos. Contudo:

- a anestesia fornecida pelo protocolo 1 afecta marcadamente a amplitude e TL da onda *a* (menores comparativamente com 2 e 3 para as respostas dos bastonetes e respostas escotópicas com intensidade luminosa de 2,5 cd/m²/s) e o TL da onda *b* (mais curto), comparativamente aos protocolos 2 e 3 (que nas mesmas condições apresentam valores superiores para a amplitude da *onda a*). Recomenda-se que, para efeitos de diagnóstico de patologia dos fotorreceptores, sejam realizados os protocolos 2 e 3 dada a importância da onda *a* para avaliar doenças generalizadas dos fotorreceptores.
- aparentemente, quando se utilizam os protocolos 2 e 3, verifica-se pouca interferência destes fármacos com grau de hiperpolarização das células fotorreceptoras após estimulação luminosa.

Podemos concluir que as associações anestésica de xilasina/ quetamina e medetomidina/ quetamina é mais vantajosa que a anestesia com tiopental e isoflurano na realização do ERG. Durante a anestesia é fundamental manter constante a oxigenação sanguínea apropriada. (O efeito da hipoxémia temperatura corporal sobre o electroretinograma será abordado com maior detalhe adiante em *Factores influentes no Electroretinograma*).

4. Aquisição de sinal

4.1 Eléctrodos

A fim de registar os potenciais eléctricos da retina é necessário usar três eléctrodos: positivo ou da córnea; negativo ou de referência e eléctrodo terra. (Ropstad & Narfström, 2007)

O registo dos potenciais representa a diferença de voltagem medida entre o eléctrodo activo (córnea) e o eléctrodo de referência. O eléctrodo terra serve de zero, ou seja, a polaridade da voltagem registada é positiva ou negativa relativamente à terra. (Komáromy, Brooks, Dawson, Källberg, Ollivier & Ofri, 2002)

Os eléctrodos de referência e terra são geralmente eléctrodos cutâneos e podem ser de agulha (intradérmicos) ou de superfície (epidérmicos) e são feitos geralmente de metal (ex. platina, prata, ouro, níquel, aço inoxidável). (Ropstad & Narfström, 2007) (Komáromy, Brooks, Dawson, Källberg, Ollivier & Ofri, 2002)

O eléctrodo negativo ou de referência é colocado subcutaneamente, 2 a 5 cm temporal ao canto lateral do olho, sobre o arco zigomático. O eléctrodo terra é colocado subcutaneamente sobre a

crista occipital (Ropstad & Narfström, 2007) ou no pavilhão interno da orelha. (Safatle, Lisak, Otsuki & Gomes, 2010)

É recomendado o uso de eléctrodos de córnea sob a forma de lente de contacto. (Narfström et al., 2002)

No mercado estão disponíveis vários tipos de eléctrodos positivos ou de córnea, incluindo lentes de contacto mono e bipolares, eléctrodos de fibra e placas de ouro. As lentes de contacto monopolares, tais como as *ERG - JetLens*, são as mais utilizadas no ERG de cães (Narfström et al., 2002) e contêm apenas uma referência sobre a córnea. (Komáromy et al., 2002)

São exemplo de lentes de contacto bipolares as *Burian-Allen Electrodes* que apresentam, além do eléctrodo positivo na córnea, um segundo eléctrodo de referência incorporado num espéculo conjuntival e a tocar nas pálpebras. (Komáromy et al., 2002)

Caso seja utilizado um eléctrodo de córnea tipo lente de contacto, uma solução iónica condutora (ex. gel de metilcelulose a 0,5% ou de carbómero) deve ser aplicada para favorecer o contacto da lente à córnea, ao mesmo tempo que a protege. (Ropstad & Narfström, 2007) (Komáromy et al., 2002)

Além da aplicação da solução condutora e protectora, alguns autores recomendam a aplicação de um anestésico tópico quando se utilizam eléctrodos de córnea. (Marmor & Zrenner, 1999) Contudo, este aspecto é controverso uma vez que a maioria dos anestésicos de córnea funciona bloqueando os canais de Na^+ dependentes da voltagem.

A presença dos canais de Na^+ dependentes da voltagem foi demonstrada a vários níveis da retina do rato (células amácrinas, camada plexiforme interna, CG e axónios das CG, células horizontais, células bipolares, cones) (Sandalon & Ofri, 2009) e está também presente na retina do cão, desempenhando um papel fundamental nos fenómenos de fototransdução como anteriormente referido.

Um grupo de cientistas formulou a hipótese de que a aplicação de um anestésico tópico que bloqueia os canais de Na^+ dependentes da voltagem (tal como a Oxibuprocaína, correntemente utilizada em Medicina Veterinária) poderá interferir no traçado electroretinográfico dos ratinhos. Foi elaborado um estudo onde 7 ratinhos foram submetidos a ERGs com 1 hora de adaptação prévia ao escuro e aplicação tópica de 1 gota de Oxibuprocaína 0,4% em um dos olhos, 15 min. antes do primeiro registo. Esta dose verificou-se ser suficiente para anestesiar a córnea dado que os ratinhos perderam o reflexo palpebral quando estimulados pela aplicação do eléctrodo de referência. Os resultados do estudo não confirmaram que a aplicação de Oxibuprocaína interfere adversamente no traçado de ERG, dado que não foram registadas alterações no traçado entre os olhos controlo (sem anestésico) e de estudo (com anestésico). Pelo contrário,

a maioria dos registos de ERG derivados dos olhos anestesiados evidenciaram um aumento, embora que insignificativo, da amplitude das ondas *a* e *b*. Este achado pode dever-se a uma melhor imobilização e posicionamento dos olhos anestesiados. (Sandalon & Ofri, 2009)

Também podem ser utilizados eléctrodos de fibra, tais como os de fibra monopolar Dawson Trick Litzkow ou DTL. (Ropstad & Narfström, 2007)

Uma vantagem dos eléctrodos de fibra sobre os de lente de contacto é que ficam a flutuar sobre a película lacrimal, não alterando as propriedades ópticas da córnea e não requerendo em geral a aplicação de gel (Komáromy et al., 2002). São mais económicos, não causam dor ou desconforto mesmo após algumas horas, não requerendo a aplicação de anestésico tópico e são descartáveis. (Rosolen, Kolomiets, Varela & Picaud, 2008)

Contudo, num estudo comparativo dos resultados obtidos com lentes de contacto e eléctrodos de agulha colocados na conjuntiva palpebral ou sob a conjuntiva bulbar, verificou-se que as ondas *b* de maior amplitude eram registadas com eléctrodos de córnea. (Mentzer et al., 2005)

Num ensaio anterior verificou-se que os eléctrodos de córnea sob a forma de lente de contacto mostraram uma amplitude de 50% ou superior e menos artefactos. (Witzel, Johnson, Pitts & Smith, 1976)

Num trabalho mais recente (2005), Mentzer e colaboradores estudaram a influência da posição do eléctrodo positivo e de referência no electroretinograma canino. Para este estudo foram testados 3 tipos diferentes de eléctrodos positivos (lente Burian-Allen bipolar, um eléctrodo de fibra monopolar Dawson Trick Litzkow ou DTL e uma lente monopolar ERG-Jet). Os autores concluíram que o tipo de eléctrodo positivo utilizado pode ter um efeito significativo na amplitude das ondas do ERG e que se verificam diferenças significativas no traçado obtido com os três tipos de eléctrodos. A distância do eléctrodo de referência ao olho também afecta o traçado de ERG no cão. Os autores verificaram de forma consistente que os eléctrodos de córnea tipo lente ERG-Jet e fibras DTL são aqueles que apresentam maior amplitude das ondas do ERG no cão comparativamente às lentes Burian – Allen. (Mentzer et al., 2005)

Uma segunda conclusão deste estudo foi que, a combinação de um eléctrodo de lente de contacto com um eléctrodo de referência colocados 5 cm caudal ao canto lateral fornece o registo de um campo eléctrico que atravessa o globo numa direcção antero-posterior, esperando-se deste modo que registem maiores amplitudes comparativamente à opção de colocar o eléctrodo de referência sobre um plano equatorial do olho (1 cm caudal ao canto lateral). (Mentzer et al., 2005)

Os eléctrodos de córnea com placa de ouro podem actuar como uma pupila artificial e afectar a quantidade de luz que incide na retina, falseando o resultado do ERG. (Komáromy et al., 2002)

Recomenda-se testar a impedância dos eléctrodos antes de cada utilização. (Narfström et al., 2002)

Através de um impedancímetro é possível medir a impedância do eléctrodo positivo colocado no cão, fazendo passar uma corrente alternada de baixa intensidade (20 μ A) a uma determinada frequência (entre 10 e 100 Hz) entre esse eléctrodo e outro de referência, de forma a atravessar os tecidos do animal. (Komáromy et al., 2002)

Preferencialmente, a impedância deve manter-se abaixo dos 2 K Ω (quando os valores de frequência se encontram entre os 10 e 1000Hz) e não deve exceder os 5 K Ω . (Narfström, et al., 2002)

É igualmente importante que as impedências dos eléctrodos para o OE e OD sejam idênticas quando se pretende um registo de OU. (Gelatt, 2007)

Os eléctrodos podem ser re-utilizados após desinfecção e inspecção visual adequadas. (Narfström et al., 2002)

4.2 Reduzir o ruído: a importância dos filtros e amplificadores

Os sinais eléctricos gerados pela retina são de baixa amplitude (geralmente inferior a 10^{-1} mV e certamente inferiores a 10^0 mV) (Gelatt, 2007) e variam com a intensidade do estímulo, grau de adaptação da retina à luz ou ao escuro, tipo de eléctrodos utilizado e espécie animal. (Rosolen, Kolomietes, Varela & Picaud, 2008)

Dada a relativamente reduzida voltagem destes potenciais, para que estes possam ser devidamente medidos, registados e interpretados, têm que ser amplificados pelo menos 10^4 vezes. (adaptado de Gelatt, 2007)

Campos electrostáticos e electromagnéticos (incluindo fios de corrente não protegidos, transformadores, computadores e monitores, telemóveis, rádios entre outros) são importantes geradores de ruído eléctrico e a sua utilização deve ser interdita na sala onde decorre o ERG. Outras fontes de ruído eléctrico são inevitáveis, mas a sua influência pode ser minimizada.

Ao calcular a média dos resultados podemos reduzir o ruído e a utilização de filtros *bandpass* atenuam as frequências que não contribuem significativamente para o registo do ERG. (Gelatt, 2007)

Ao utilizar filtros *bandpass*, os amplificadores rejeitam as frequências abaixo e acima dos limites inferiores e superiores pré-estabelecidos. (Liapis, 2004)

Distinguem-se os *low pass filters* dos *high pass filters*. Os primeiros deixam passar radiações de baixa frequência e atenuam outras de frequência superior à do *cutoff* estabelecido. Por oposição, os *high pass filters* são permeáveis à radiação de maior frequência e reduzem a

amplitude de outras radiações de frequência abaixo da estipulada.

O ECVO estabeleceu *cutoffs* para os *low* e *high pass filter*, de 1Hz e 300 Hz respectivamente. (Narfström et al., 2002)

Dados estes ajustes na selecção de feixes de luz e com estes valores de frequência pré-estabelecidos, não é possível registar a onda *c*.

A utilização de filtros que reduzem o ruído causado pela corrente eléctrica principal (de 60 Hz nos EUA e de 50 Hz no resto do mundo) não é aconselhada pelo ECVO porque bloqueiam parcialmente frequências que contribuem para a formação das *ondas a* e *b*. (Gelatt, 2007) (Narfström et al., 2002)

Para registar PO recomenda-se a utilização de *low pass filters* de 75 – 100 Hz e de *high pass filters* de 300 Hz. (Rosolen, Kolomietes, Varela & Picaud, 2008).

5. Electroretinografia: Técnica

A técnica de electroretinografia regista o somatório das alterações dos potenciais de membrana de um grande número de células excitáveis da retina, em resposta a um estímulo visual ao longo de um determinado período de tempo. (Komáromy et al., 2002)

O electroretinograma é o registo dos potenciais bioeléctricos resultantes da estimulação da retina pela luz e representa a actividade dos diferentes tipos de células da retina que se estendem desde o EPR até às células da camada nuclear interna. (Yanase, Ogawa & Ohtsuka, 1995)

Dois protocolos distintos são utilizados, com diferentes fins, na avaliação da função da retina no cão: **protocolo curto** e **protocolo standard**.

O protocolo curto tem maior interesse para a prática clínica de Oftalmologia Veterinária. Permite determinar, de forma rápida, se existe ou não actividade eléctrica na retina. Por este motivo é o protocolo de eleição na avaliação da retina pré-cirurgia de cataratas e no diagnóstico diferencial de alterações específicas que conduzem à cegueira, tais como a DSAR e a Neurite do Nervo Óptico (diagnóstico diferencial de causas retinianas ou pós-retinianas de cegueira).

Este não é um método electroretinográfico adequado para testar a função dos cones e dos bastonetes em pacientes que sofrem de displasias ou degenerescência hereditária dos fotorreceptores. Se o cão é suspeito de possuir uma alteração generalizada dos fotorreceptores sugere-se que seja submetido ao protocolo de diagnóstico para avaliação específica dos dois tipos de fotorreceptores. (Narfström et al., 2002)

O segundo protocolo de ERG, mais exaustivo, é utilizado para detectar e avaliar precocemente

as doenças hereditárias e congénitas dos fotorreceptores. Este protocolo envolve um extenso teste da função dos cones e bastonetes com base nas suas diferentes propriedades electrofisiológicas. Através da resposta dos fotorreceptores a processos de adaptação ao escuro, à luz intensa, luz azul, luz vermelha, luz branca e determinação do *flicker fusion frequency* em resposta à incidência de *flashes* rápidos de luz, é possível avaliar o desempenho dos bastonetes e cones separadamente. (Slatter, 2008) (Komaromy, Smith & Brooks, 1998).

A *flicker fusion frequency* é a frequência de estimulação a partir da qual cada resposta individual do ERG não é registada individualmente e depende da funcionalidade dos cones e bastonetes sob a incidência de luz de comprimento de onda e frequência pré-determinados. (Slatter, 2008)

A função dos bastonetes é registada em condições escotópicas (baixa intensidade luminosa) e com uma frequência de *flicker* de 20 Hz ou inferior. Os cones respondem a intensidades luminosas superiores e a *flickers* mais rápidos (de frequência igual ou superior a 30 Hz). No diagnóstico precoce de degenerescência dos cones e/ou dos bastonetes (ex. APR) períodos de adaptação ao escuro prolongados permitem isolar, com maior precisão, a resposta dos bastonetes. Períodos mais longos em condições fotópicas permitem isolar a resposta dos cones (Komaromy, Smith & Brooks, 1998).

Quer a adaptação ao escuro, quer a adaptação à luz, são processos que consomem tempo e devem ser meticolosamente seguidos. A ordem pela qual se realizam é indiferente desde que o clínico cumpra com os tempos de adaptação recomendados. (Narfström et al., 2002)

Uma diferença enorme na realização de electroretinografias em cães e Humanos está na necessidade de anestésiar os cães. Uma anestesia geral é fundamental, especialmente quando se pretende realizar o protocolo de ERG mais longo. (Narfström et al., 2002)

Para assegurar resultados viáveis e comparáveis entre diferentes laboratórios e especialistas, os processos e etapas recomendadas para a realização de electroretinografia em cães e qualquer outra espécie devem ser standardizados quanto às condições luminosas (que precedem a anestesia e durante o exame) e quanto ao tipo de anestesia utilizado. É igualmente importante que todos os laboratórios que realizam o segundo protocolo estabeleçam, sob as mesmas variantes, os valores de referência para tempos de resposta e amplitude das ondas registadas com base no equipamento que utilizam e para cada espécie de animais testados e de acordo com a sua idade. (Narfstrom, 2002)

5.1 Função dos Bastonetes e processo de adaptação ao escuro

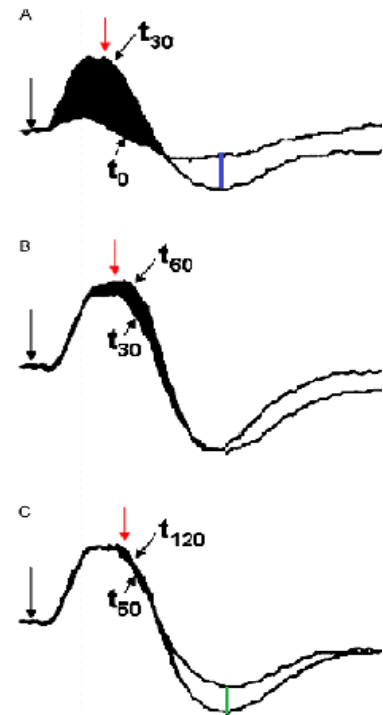
A função dos bastonetes pode ser estudada pela estimulação da retina pré-adaptada ao escuro com estímulos luminosos de baixa intensidade. O pico máximo de resposta da actividade dos bastonetes é registado no ERG da maioria das espécies ao fim de 60 min. de adaptação ao escuro (aproximadamente). O processo de adaptação dos bastonetes ao escuro é dinâmico e moroso. Por esse motivo, nos protocolos de ERG por *flash* realizados para fins clínicos só é avaliada a primeira parte deste processo: aquela onde os bastonetes se tornam mais sensíveis e consequentemente mais responsivos. (Gelatt, 2007)

Se durante a monitorização da resposta dos bastonetes ao longo dos primeiros minutos de adaptação ao escuro houver registo de potenciais de acção destas células, então o sistema de bastonetes está funcional e terá capacidade de gerar respostas sucessivamente maiores com o decurso da adaptação ao escuro. (Gelatt, 2007)

No protocolo longo de electroretinografia em cães, o ECVO sugere um período de adaptação ao escuro de 20 min para testar a função dos bastonetes. Trata-se de um processo dinâmico e deve ser avaliado por disparos de luz de baixa intensidade a cada 4 min a começar em t_0 (um único *flash* disparado com intervalos de 4 min testa a resposta dos bastonetes e a eficiência da adaptação ao escuro). O uso de luz branca está recomendado. (Narfström et al., 2002)

Este processo é denominado por “adaptometria escotópica” e representa as alterações na amplitude das ondas escotópicas em função do tempo. Ao longo do período de adaptação ao escuro, a amplitude das respostas do ERG aumenta gradualmente devido à regeneração da rodopsina (que demora aproximadamente 30 min) Quando termina o processo de regeneração da rodopsina, a resposta do ERG é mais estável.

Fig. 20 - Representação de um ERG escotópico (adaptado de Rosolen, Kolomiets, Varela & Picaud, 2008)



Três curvas de ERG resultantes da sobreposição de traçados obtidos com *flashes* de $-1,6 \log \text{cd/m}^2/\text{s}$ disparados a 0,1 Hz. A seta preta vertical indica o início do processo de adaptação ao escuro (t_0). Os *flashes* de luz foram disparados a t_{30} , t_{60} e t_{120} (min) e os potenciais foram registados em A, B e C respectivamente. A linha pontilhada vertical indica o TL da curva *b* em t_0 e a seta vertical vermelha o TL a t_{30} (A), t_{60} (B) e t_{120} (C).

Notar a ausência de onda *a* em condições escotópicas e o aumento gradual da amplitude da onda *b* com o aumento progressivo do período de adaptação ao escuro dos bastonetes. A deflexão negativa que segue a onda *b* não assume a mesma lógica: aumenta de amplitude entre t_{30} e t_{60} e diminuiu entre t_{60} e t_{120} .

Consequentemente, para avaliar a função dos bastonetes, a intensidade do estímulo luminoso deve ser significativamente atenuada tendo em conta o ganho em sensibilidade dos bastonetes resultante da adaptação ao escuro e regeneração da rodopsina ao longo do processo. (Rosolen, Kolomiets, Varela & Picaud, 2008)

A intensidade do flash de luz usado para testar a função dos bastonetes deve ser mais baixa e de valor igual a $2 \log \text{ units}$ abaixo da intensidade do *flash standard*^{††††} (utilizada para testar os cones) ou seja, de 0,02-0,03 cd/m²/s. Para avaliação da função dos bastonetes pode ser utilizada a média dessas respostas (calculada a partir de um máximo de 4 respostas apresentadas a uma taxa preferencialmente de 0,5 Hz ou inferior). (Narfström et al., 2002)

Uma característica do ERG escotópico é a ausência de onda *a*. (Rosolen, Kolomiets, Varela & Picaud, 2008)

Se a retina foi previamente exposta a luz intensa (por exemplo após fotografia do fundo ocular) deve-se estender o período de adaptação ao escuro para uma hora. (Tuntivanich et al., 2005) (Narfström et al., 2002)

Tuntivanich e colaboradores (2005) desenvolveram um trabalho sobre a avaliação da importância do tempo de adaptação ao escuro necessário para que seja possível recuperar as respostas electroretinográficas normais após fotografia do fundo do olho e oftalmoscopia indirecta. Os autores descrevem que o ERG de cães sujeitos a fotografia do fundo do olho ou oftalmoscopia indirecta (durante 5 min com luz moderada a forte) e submetidos a 20 min de adaptação ao escuro exibem uma redução na amplitude das *ondas a* e *b* (resultantes da estimulação com *flashes* de luz de diferentes intensidades) comparativamente com os resultados obtidos pré-teste. Os autores verificaram que, se o período de adaptação ao escuro for aumentando para 60 min após fotografia do fundo ocular ou oftalmoscopia indirecta, o traçado de ERG é normal. Se este período de tempo não for cumprido, os resultados obtidos poderão levar ao falso diagnóstico de retinopatias. (Tuntivanich et al., 2005)

Estes resultados estão de acordo com as recomendações da ECVO; contudo, não é mencionado nas suas recomendações para a electroretinografia em canídeos a necessidade de prolongar o período de adaptação ao escuro após oftalmoscopia indirecta.

5.2 Avaliação da função mista de cones e bastonetes

No escuro criam-se condições para registar a resposta dos bastonetes, mas quando a

^{††††}Um sistema standard é definido pelo ISCEV como aquele que produz um estímulo de intensidade (em energia luminosa por metro quadrado) entre 1,5 – 4,5 cd.s.m⁻² (ou candela-segundo por metro quadrado) à superfície da câmara de Ganzfeld. O Flash standard (FS) possui esta intensidade, equivalente a 1 fL (foot-Lambert) = 3,43 cd/m²/sec = 0 dB e é uma medida de intensidade luminosa;

intensidade da luz ambiente se aproxima de $1 \text{ cd/m}^2/\text{s}$ a resposta do ERG vai incluir a participação dos bastonetes e dos cones. (Rosolen, Kolomiets, Varela & Picaud, 2008)

A avaliação mista de cones e bastonetes é feita após um período de adaptação ao escuro através da estimulação da retina com um único *flash* de luz de $2 - 3 \text{ cd/m}^2/\text{s}$. Caso se verifique necessário obter a média de resultados, não é recomendado disparar mais do que um *flash* a cada 10 s a fim de não adaptar os bastonetes à luz. (Narfström et al., 2002)

5.3 Avaliação da função dos cones

Em condições fotópicas o sistema de bastonetes fica saturado. Ao usar estímulos luminosos de elevada intensidade e após um período de adaptação da retina à luz criam-se condições para registar uma resposta exclusiva dos cones. (Gelatt, 2007)

A função dos cones é testada em condições fotópicas. As recomendações do ECVO para a dessensibilização dos bastonetes passam pela adaptação da retina à luz durante 10 min, sob condições fixas de luminosidade e com intensidade constante de aproximadamente $30 - 40 \text{ cd/m}^2$. Para este efeito pode ser utilizada a esfera *ganzfeld*. A luz ambiente não é uniformemente distribuída sobre a retina, pelo que não se adequa. (Narfström et al., 2002)

Só então se pode prosseguir com o registo da actividade dos cones, através da estimulação da retina com *flashes* de luz de elevada intensidade ($2 \text{ a } 3 \text{ cd/m}^2/\text{s}$) e resposta à luz *flicker*. Em determinadas circunstâncias, um único *flash* poderá ser suficiente para testar os cones. Caso não se obtenha uma resposta adequada, deve ser utilizada a média de resultados de 4 *flashes* disparados com uma frequência de 4.9 a 5.1 Hz (Narfström et al., 2002)

Os bastonetes são incapazes de responder à luz *flicker* de rápida frequência e elevada intensidade. Com base neste conhecimento e para isolar a resposta dos cones, o ECVO recomenda utilizar *flickers* de 31 Hz (e de 40 ou 51 Hz, por exemplo) para evitar possíveis interferências causadas pelos artefactos induzidos pela corrente eléctrica da rede pública que ocorrem a 50 ou 60 Hz, dependendo da região. (Narfström et al., 2002)

Vimos atrás que, nos cães, os cones apresentam um espectro de absorção com dois picos absorção máxima de 430nm e 555nm, correspondentes à luz azul e verde respectivamente. Não obstante, conseguem distinguir cores na gama dos 430 – 475nm e entre os 500-620nm. Com base nestas absorções diferenciais de luz é possível estimar a função dos cones de forma mais detalhada por electroretinografia multicores e avaliar patologias específicas dos cones, tais como a hemeralópia do Malamute do Alaska e algumas situações de intoxicação.

No trabalho de Maehara e colaboradores (2005,a), a propósito da detecção de alterações na função dos cones induzidas pela digoxina em cães e a importância da electroretinografia

multicores para a avaliação detalhada e discriminada dos cones, os autores isolaram a resposta detalhada de cada tipo de cones utilizando 4 eléctrodos de córnea com uma fonte de luz LED incorporada e capacidade de emitir *flashes* de luz branca, azul (470nm), vermelha (644nm) e verde (525nm). O ERG registado com cada um dos eléctrodos incluiu a resposta dos bastonetes ($0,0096 \text{ cd/m}^2/\text{s}$), resposta combinada de cones e bastonetes ($3 \text{ cd/m}^2/\text{s}$), resposta a *flash* único de elevada intensidade ($3 \text{ cd/m}^2/\text{s}$ com luz de fundo de 25 cd/m^2) e *flicker* de 30 Hz ($9,9 \text{ cd/m}^2/\text{s}$ com luz de fundo de 25 cd/m^2). A resposta dos bastonetes e o protocolo *standard* foram registados em sala escura e o registo da resposta de cones com *flash* único e a resposta ao *flicker* de 30 Hz foram registados após 10 min. de adaptação à luz.

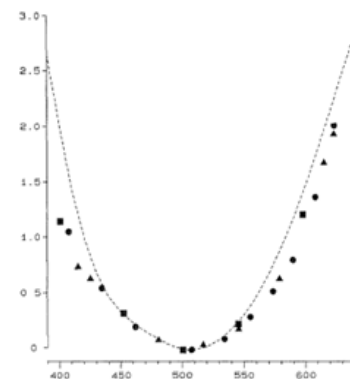
Neste estudo os autores verificaram que as resposta obtidas com eléctrodos LED de cores permitiram uma avaliação discriminada da função dos cones e é um método eficiente para o diagnóstico de degenerescência destas células. A resposta obtida com eléctrodos de luz vermelha foi fraca, confirmando a ausência de cones com capacidade de absorver luz neste comprimento de onda. Pelo contrário, as respostas obtidas com eléctrodos de luz azul e verde foram facilmente registadas e reproduzíveis, oferecendo resultados mais sensíveis que aqueles obtidos com *flashes* de luz branca.

Em 1995, Yanase, Ogawa e Ohtsuka da Universidade Miyazaki no Japão realizaram um estudo sobre a participação dos componentes “bastonetes” e “cones” no electroretinograma de campo total em oito cães de raça pura (não identificada no estudo) anestesiados. O projecto consistiu na avaliação das respostas electroretinográficas obtidas através de um eléctrodo de córnea e por estimulação da retina com *flashes* de luz azul e vermelha, disparados de 3 em 3 min num total de 91 min (que corresponderam ao tempo total de adaptação da retina ao escuro seguido de um período de adaptação à luz de 10 min). No teste com luz azul, aos 13 min registou-se uma onda *b* de pequena amplitude que aumentou gradualmente de amplitude e pico de latência ao longo do período de adaptação ao escuro. Após 31 min de adaptação ao escuro

registaram-se os primeiros potenciais oscilatórios na porção ascendente da onda *b* e uma pequena deflecção negativa antes do aparecimento desta onda. Em três dos cães estudados

Fig. 21 - Função da sensibilidade espectral (eixo dos yy) em função do comprimento de onda (nm) (eixo dos xx) após 2 horas de adaptação ao escuro. (adaptado de Yanase, Ogawa e Ohtsuka,1995)

A curva a ponteados corresponde à eficiência de detecção de luz de diversos comprimentos de onda em condições escotópicas em Humanos. Os símbolos representam diversos registos nas mesmas condições em 3 cães.



foram calculadas as sensibilidades espectrais após 2 horas de adaptação ao escuro. O pico de absorção máxima no espectro de sensibilidade da onda *b* foi de 500 – 510 nm, valor consistente com aqueles previamente mencionados para a absorção de luz pelos bastonetes do cão. Com base nos resultados obtidos, os autores consideraram que a onda obtida aos 13 min de adaptação ao escuro derivava da actividade dos bastonetes e é uma resposta escotópica.

A estimulação da retina com luz vermelha decorreu nos mesmos moldes mas os resultados obtidos foram bastante díspares. Imediatamente após o início do período de adaptação ao escuro (1 min) foi registada uma onda *b* de pequena amplitude e curto pico de latência. Durante os 4 a 16 min de adaptação ao escuro que se seguiram a amplitude e pico máximo de latência desta mantiveram-se constantes. Devido ao aparecimento e aumento em amplitude dos componentes escotópicos, esta pequena onda *b* tornou-se pouco nítida aos 19 min. Após o período de adaptação ao escuro o traçado de ERG obtido por estimulação com luz vermelha era praticamente semelhante àquele desencadeado pela luz azul.

Em Humanos e Macacos é possível distinguir a onda *b* fotópica (resposta dos cones) da escotópica (resposta dos bastonetes) obtida por estímulos escotópicos equilibrados de cor vermelha e após um período de adaptação ao escuro. Os resultados obtidos neste estudo com cães não são, contudo, concordantes. As ondas de ERG obtidas em condições escotópicas pela estimulação da retina com luz azul e vermelha após um período de adaptação ao escuro são semelhantes.

Para determinar se o traçado de ERG obtido por estímulos luminosos vermelhos após o período de adaptação ao escuro incluía a resposta dos cones, os autores registaram um ERG com estímulos azuis e vermelhos sob luz ambiente azul-esverdeada com intensidade suficiente para eliminar a resposta dos bastonetes. Na ausência de luz de fundo, os traçados electroretinográficos obtidos independentemente por flashes de luz vermelha e azul eram semelhantes na sua forma e amplitude. No ERG resultante da estimulação com luz vermelha não foi distinguível uma onda *b* fotópica. À medida que a intensidade da luz de fundo aumentava, a amplitude da onda *b* escotópica diminuía. Sob a presença de luz de fundo muito intensa não foi registada qualquer resposta ao *flash* de luz azul. Pelo contrário, foi despoletada uma pequena onda *b* positiva sob influência de luz vermelha. Esta onda *b* é semelhante à registada anteriormente com estímulos vermelhos e durante a adaptação ao escuro, interpretada como sendo uma onda *b* fotópica derivada da resposta dos cones.

Concluindo, apesar do estímulo de luz vermelha usado servir para despoletar uma onda *b* fotópica em registos realizados sob condições de luminosidade suficientes para eliminar a resposta dos bastonetes, a componente do ERG justificada pela actividade dos cones não era

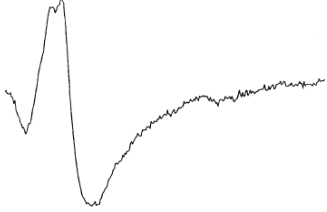
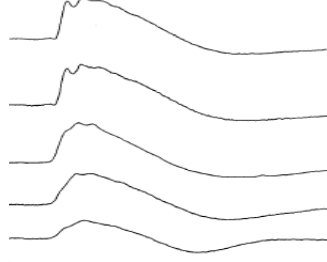
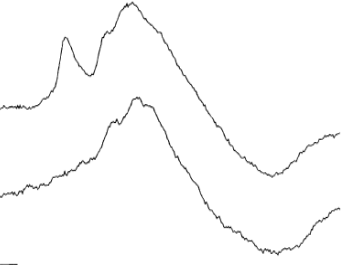
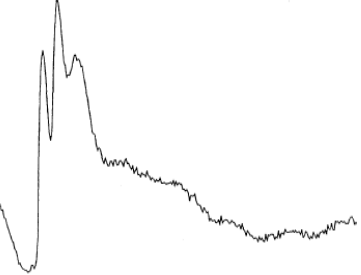
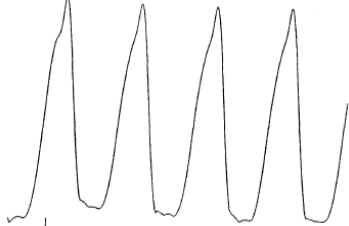
claramente distinguível dos traçados registados com estímulos de luz vermelha sob adaptação ao escuro. Shaeppi e Liverani (1977) em *Procedures for routine clinical electroretinography (ERG) in dogs* (Agents and Actions 7: 347-351) foram referidos neste estudo por sugerirem que esta diferença inter-espécies se pode justificar pela menor sensibilidade do sistema cones nos cães e anteriormente referida por outros autores, igualmente citados no estudo, como sendo apenas 1/30 da sensibilidade do sistema de cones em Humanos (apesar dos bastonetes apresentarem a mesma sensibilidade a *flashes* luz branca).

Os autores concluíram que, no ERG dos cães, para registar detalhadamente a resposta mediada pelos cones é necessário usar uma luz de fundo com intensidade suficiente para eliminar os componentes escotópicos ou, em alternativa, um rápido *flicker* de luz numa intensidade à qual se verifique fusão da resposta dos bastonetes.

No mesmo ano (1995) Narfström, Andersson, Andreasson e Gouras desenvolveram um estudo semelhante, com o intuito de avaliar a expressão da função dos cones e bastonetes através de electroretinografia por *flash* com um dispositivo de difusão de luz tipo *ganzfeld*. A esfera de *ganzfeld* distribuiu um estímulo luminoso de 1.1 cd/m²/s (reduzido em 30% aquando a estimulação por *flickers* de luz de 30Hz) e uma luz de fundo estável de 17 cd/m². Os eléctrodos utilizados foram lentes de contacto bipolares Burian-Allen pediátricas, ligados a um pré-amplificador de sinal com um ganho de 10 000 e filtrados por um *bandpass filter* de 5 – 1500Hz. Os cães sofreram uma adaptação prévia à luz (17 cd/m²) durante 10 min. Nesse período foram disparados 8 a 18 *flashes* de luz branca, após o que se seguiu a adaptação ao escuro de 20 min. A resposta dos bastonetes foi então avaliada com *flashes* de luz azul (450 nm; 1.1Hz) disparados com 5 min de intervalo. Após 25 min de adaptação ao escuro e registo das respostas escotópicas os olhos foram estimulados com *flashes* de luz vermelha (630 nm; 5.1Hz) para separar a função dos bastonetes da dos cones. Após 30 min de adaptação ao escuro foi disparado um único *flash* de luz branca para registar a resposta máxima, que inclui actividade dos cones e dos bastonetes. Por fim, a estimulação com luz *flicker* de 30 Hz foi feita em condições escotópicas para isolar a função dos cones. A técnica de ERG de campo total por *flash* apresentada nesta publicação por Narfström e seus colaboradores permitiu:

- uma resposta estável das células quando adaptadas à luz;
- uma resposta dos bastonetes depois de um período de adaptação ao escuro;
- separação da resposta dos cones e bastonetes sob luzes de diferentes cores;
- resposta de cones isolada com luz *flicker*.

Tabela 7 - Curvas normais obtidas com esfera *ganzfeld*. (adaptado Narfström, Andersson, Andreasson & Gouras, 1995)

Electroretinograma	Comentários
	<p>Média de 8 respostas a <i>flashes</i> de luz branca após adaptação à luz. Resposta exclusiva ou maioritariamente dos cones; resposta relativamente pequena em amplitude (5μV com 10ms) com uma <i>onda a</i> óbvia e uma <i>onda b</i> rápida.</p>
	<p>Processo de adaptação ao escuro com luz azul; cada curva corresponde à média de 4 respostas. A curva inferior corresponde à resposta imediatamente após início de adaptação ao escuro e a última (superior) foi registada após 20 min de adaptação ao escuro. A resposta ilicitada pela luz azul corresponde predominantemente ao sistema de bastonetes. Virtualmente não se regista uma <i>onda a</i>, a <i>onda b</i> é relativamente lenta e com algumas oscilações na sua fase ascendente; após o pico de <i>onda b</i> regista-se uma negatividade tardia característica da resposta dos bastonetes.</p>
	<p>Traçado superior: Resposta à luz vermelha em condições escotópicas; traçado inferior: resposta à luz azul em condições escotópicas; média de 256 respostas com 2μV de amplitude e 10ms. As respostas escotópicas à luz vermelha e azul são equivalentes para os bastonetes. A luz vermelha produz uma <i>onda b</i> rápida que está ausente na estimulação com luz azul. As luzes vermelha e azul produzem <i>ondas b</i> largas com a mesma amplitude e forma. A resposta precoce com luz vermelha é de cones.</p>
	<p>Resposta máxima produzida por um único flash de luz branca após 30 min. de adaptação ao escuro; 10μV de amplitude e 10 ms de tempo. Esta é uma resposta combinada de cones e bastonetes; regista-se uma <i>onda a</i> inicial e uma <i>onda b</i> oscilatória de grande amplitude.</p>
	<p>Média de 64 respostas ao <i>flicker</i> de luz branca com 30 Hz; 2 μV de amplitude e 10 ms de tempo. É uma resposta exclusiva de cones que se regista com valores de frequência superiores à frequência de fusão <i>flicker</i>.</p>

6. Resumo do protocolo curto recomendado para avaliação grosseira da retina

(recomendações do ECVO)

1. Para realizar o protocolo curto o cão deve ser preparado numa sala com luz ambiente.
2. Testar a funcionalidade da retina em condições de luz ambiente (mesópticas) usando o FS (*flash* único de luz de elevada intensidade).
3. Apagar a luz e testar a retina ao primeiro minuto do período de adaptação ao escuro com um FS.
4. Testar novamente a função da retina após 5 min de adaptação ao escuro com um FS.

7. Resumo do protocolo de diagnóstico de alterações dos fotorreceptores

(recomendações do ECVO)

1. Preparar o cão numa sala com luz ambiente e desligar a luz assim que possível.
2. Adaptar a retina ao escuro durante um período de 20 min enquanto se avalia dinamicamente a função dos bastonetes com disparos de *flashes* luminosos a cada 4 min (aos 1, 4, 8, 12, 16 e 20 min de adaptação ao escuro; resposta *flicker* de bastonetes).
3. Testar a resposta mista de cones e bastonetes com um único *flash* de luz de elevada intensidade.
4. Testar a função dos cones após 10 min de adaptação à luz.
5. Testar a resposta dos cones à luz *flicker*.

8. Registo e interpretação dos resultados

O registo dos traçados electroretinográficos é feito, hoje em dia, por qualquer computador que suporte o *software* necessário.

Os resultados são impressos em qualquer impressora capaz de ser ligada ao mesmo computador.

8.1 Componentes do Electroretinograma

8.1.1 Ondas *a*, *b*, *c* e *i*

A linha de base do ERG corresponde ao potencial de repouso do olho e o traçado normal do ERG clínico do cão deve incluir três deflecções à sua linha de base: as ondas *a*, *b* e *c*. O ERG obtido a partir da estimulação da retina com um único *flash standard* de luz representa um desvio da linha de base e é composto por uma primeira deflecção negativa (onda *a*), seguida pela primeira deflecção positiva (onda *b*) à qual se sucede uma segunda deflecção positiva (onda *c*). A onda *c* (com origem nas células do epitélio pigmentar da retina) nem sempre é observada em registos electroretinográficos clínicos regulares (Ropstad & Narfström, 2007) por

ser atenuada e distorcida com maioria dos filtros. (Komaromy, Smith & Brooks, 1998)

As ondas do electroretinograma são interpretadas em termos qualitativos (pela avaliação da forma da onda) e quantitativos (medindo a amplitude e tempo de latência (TL) de cada onda). A morfologia e fisiologia do sistema visual neuronal podem ser perturbadas por doença ou lesão das suas estruturas, levando a alterações no registo dos potenciais electroretinográficos. A interpretação dessas alterações tem importância para o diagnóstico e prognóstico de doenças da retina, mas é preciso ter em conta que factores externos à retina (tais como equipamento e limitações da técnica) podem conduzir ao registo alterado do seu traçado, mimetizando variações electrofisiológicas associadas a doenças oculares em olhos saudáveis. (Komaromy, Brooks, Dawson, Källberg, Ollivier & Ofri, 2002)

- A **onda a**, primeiro componente do ERG, reflecte a hiperpolarização dos fotorreceptores (carga intracelular negativa) após o encerramento dos canais de sódio quando a retina sofre estimulação pela luz. (Gelatt, 2007)

Dependendo do grau de adaptação da retina à luz, a onda *a* resulta apenas da actividade dos cones ou dos cones e bastonetes em simultâneo. Não se verifica uma onda *a* exclusiva dos bastonetes porque em condições escotópicas, a onda *a* só é registada através da estimulação da retina com um *flash* de luz de intensidade compatível com o espectro fotópico. (Rosolen, Kolomiets, Varela & Picaud, 2008)

A hiperpolarização diminui a libertação de neurotransmissores que por sua vez activa as células bipolares. (Gelatt, 2007)

Assim, a onda *a* resulta sobretudo do somatório dos potenciais das células fotorreceptoras e bipolares, apesar dos outros elementos da camada interna da retina (tais como as células amácrinas) prestarem igualmente uma contribuição para esta deflecção. A porção inicial da onda *a* representa especificamente a actividade dos fotorreceptores. A contribuição das CG para a onda *a* torna-se mais evidente a partir do ponto em que a resposta atinge um pouco mais que metade do valor máximo do pico negativo. (Komaromy, Smith & Brooks, 1998)

- Estudos realizados na década de 70 sugeriram que a **onda b** era gerada pela resposta das células de Müller (células da glia que atravessam a retina em toda a sua espessura) às alterações extracelulares dos níveis de potássio, secundárias à actividade das células ON-bipolares (células bipolares activadas por um aumento da luminescência). (Komaromy, Smith & Brooks, 1998)

Estudos mais recentes sugerem que a onda *b* fotópica é gerada pela activação síncrona das células ON-bipolares despolarizantes e das células OFF-bipolares hiperpolarizantes, cada uma contribuindo em sequência para a forma da onda *b* (hipótese *push – pull*: as células ON

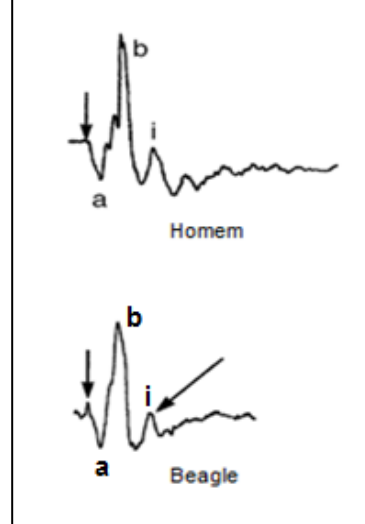
contribuem para a porção ascendente da onda *b* e as células OFF limitam a amplitude da onda *b* ao contribuírem para a redução do potencial da retina no pico da onda *b* no sentido da linha basal). Apesar de haver evidência clínica que as células de Müller também participam na formação da onda *b* do ERG, é muito difícil isolar a sua contribuição à semelhança da das células bipolares. Acredita-se que as células de Müller amplificam o sinal das células bipolares. (Rosolen, Kolomiets, Varela & Picaud, 2008)

Rosolen e seus colaboradores publicaram um estudo em 2005 sobre uma característica peculiar da onda *b* registada no ERG de cães da raça Beagle. Segundo a experiência do autor e da sua equipa, no electroretinograma dos cães de raça Beagle verifica-se uma forte componente negativa logo após a onda *b*. Nesta publicação os autores fazem referência a estudos prévios onde o mesmo achado foi reportado em cães das raças Poodle e Briard (além do Beagle), sem que a sua origem tivesse sido decifrada. Os autores realizaram ERGs sucessivos e espaçados no tempo a dois indivíduos desta raça que apresentavam ausência unilateral do tapete lúcido (condição rara mas que pode ser observada em cães desta raça). Os ERGs foram registados em condições fotópicas e escotópicas e foi avaliada igualmente a função mista dos cones e bastonetes. Um achado comum a todos os ERGs realizados aos olhos providos de tapete lúcido (em condições fotópicas e escotópicas, repetidos duas vezes com um mês de intervalo) foi a presença desta forte deflecção negativa após o registo da onda *b*. Nos olhos que não apresentavam tapete lúcido não ocorreu registo desta particularidade. Com base nestes resultados, os autores sugerem que o tapete lúcido contribui para a formação deste componente do traçado electroretinográfico que segue a onda *b*. A constância de resultados, quer em condições fotópicas quer escotópicas, exclui a possibilidade deste achado ser uma resposta fotópica negativa. (Rosolen, Chalier, Rigaudière e Lachapelle, 2005)

- A **onda c** resulta de uma hiperpolarização fugaz da membrana apical das células do epitélio pigmentar e de uma hiperpolarização das células de Müller em resposta à luz. A onda *c* não é registada nos ERGs de rotina por motivos técnicos. (Gelatt, 2007)

- A **onda i** no electroretinograma de *flash* é uma deflecção positiva que surge após a onda *b* e que se verifica em condições fotópicas. A origem da onda *i* ainda não foi esclarecida, mas sugere-se que seja gerada ao nível do NO ou na camada de CG. (Gelatt, 2007).

Fig. --- Onda *i* no ERG Humano e do Beagle. (adaptado de Rosolen e outros, 2004)



Num estudo comparativo da onda *i* fotópica em diferentes espécies, Rosolen e colaboradores (2004) utilizaram a técnica de electroretinografia de campo total por *flash*, numa câmara *ganzfeld*, em condições fotópicas (após 2 h de adaptação à luz de 30 cd/m²) e estimulação com *flashes* de luz de 3,5 cd/m²/s e 20 µs. Os resultados obtidos para o ERG do cão Beagle foram os seguintes:

Amplitude (µV): onda *a* = -64,5; onda *b* = 219,5; onda *i* = 48,7.

TL (ms): onda *a* = 10,6; onda *b* = 22,3; onda *i* = 50,1.

Sendo que a amplitude da onda *i* foi medida desde o ponto mais baixo da onda *b* até ao pico da onda *i*. A onda *i* segue-se à onda *b* após um período de aproximadamente 20 ms na maioria das espécies estudadas. (Rosolen, et al., 2004)

8.1.2 Potenciais oscilatórios (PO)

Os PO são um conjunto de ondas de baixa amplitude e elevada frequência registadas na porção ascendente da onda *b* (Gelatt, 2007) quando são utilizados estímulos luminosos de elevada intensidade. (Narfström et al., 2002)

O seu número varia consoante a espécie (cerca de 3 a 5 PO podem ser registados nos cães) e é possível filtra-los e analisá-los separadamente. (Gelatt, 2007)

Os PO são mais facilmente registados em condições mesópicas (Wachtmeister, 1987) mas ajustando os parâmetros do filtro de baixa frequência para valores mais elevados que aqueles recomendados para o ERG de *flash* e introduzindo estímulos especiais e condições de adaptação à luz, os PO podem ser ampliados. (Komaromy, Smith & Brooks, 1998)

Se o objectivo for estudar especificamente os PO, o ECVO recomenda realizar primeiro a resposta escotópica dos cones e bastonetes (obtida após um único FS de luz branca) e filtrar a resposta para os PO depois. Devem ser ajustados os parâmetros do filtro de baixa frequência para os 70 – 100Hz e o equipamento deve providenciar uma boa ampliação do sinal para que os registos possam ser avaliados com acuidade. O ECVO recomenda a utilização de equipamento que tenha capacidade de ampliar os potenciais obtidos com ERG de FS em 10 000 – 20 000 vezes e os PO em 100 000 vezes para que os resultados possam ser avaliados com exactidão. (Narfström et al., 2002)

Ao estudar a função de resposta ao estímulo luminoso dos PO, Wachtmeister (1987) verificou que: o limiar de resposta dos PO é 2,5 – 3 log superior ao da onda *b* e aproximadamente igual ao da onda *a*. A energia dos PO aumenta linearmente com o aumento da intensidade do estímulo luminoso, é máxima para intervalos entre *flashes* de luz de 30s e quanto mais curto for o intervalo entre estímulos, maior a energia dos PO.

Vários estudos têm sido conduzidos para tentar determinar quais as células da retina responsáveis pela formação dos PO. Embora ainda não tenha sido confirmada, sabe-se que as características electroretinográficas dos PO são distintas das da *onda a* e *onda b* indicando uma possível origem independente destes PO comparativamente aos outros componentes do ERG. Crê-se que os PO reflectem a actividade das células bipolares (Wachtmeister, 1987; Ropstad e Narfström, 2007) e interacção entre os cones e bastonetes na porção interna da retina. (Wachtmeister, 1987)

Em Medicina Humana os PO podem ter valor prognóstico na identificação precoce de pacientes com doenças vasculares em risco de desenvolver retinopatias proliferativas devido a isquémia da retina (por ex. na trombose da veia central da retina ou oclusão da artéria retiniana os PO estão diminuídos ou ausentes e parecem ter um bom valor prognóstico) e têm muito valor no diagnóstico e prognóstico de desenvolvimento de retinopatias diabéticas. Em pacientes com retinopatia diabética avançada os POs estão ausentes ou reduzidos e podem apresentar amplitude reduzida e prolongada em pacientes diabéticos que ainda não manifestam alterações oftalmoscópicas. (Wachtmeister, 1987)

Em cães, a amplitude dos POs aumenta e o TL diminui quando a PIO está aumentada. Em cães que sofreram um aumento da PIO para o triplo durante um período de tempo superior a 3 - 5 min verificou-se supressão dos PO e do traçado de ERG. Estas alterações foram reversíveis e assim que a PIO voltou ao fisiológico o traçado de ERG foi normal. (Gelatt, 2007)

É importante manter em mente que os PO também vão estar alterados em situações patológicas que afectam primariamente a camada externa da retina porque o *in put* das células da camada externa da retina para as células amácrinas e interplexiformes vai estar reduzido. Assim, em situações de distrofia dos cones e bastonetes espera-se uma redução nos POs e na amplitude das ondas *a* e *b*. (Gelatt, 2007)

O ISCEV (*International Society for Electrophysiology of Vision*) definiu para *flash standard* (FS) o valor intensidade de um *flash* que produz uma onda *a* cuja amplitude é metade da amplitude da onda *b* (ou seja, a razão amplitude de *b*/ amplitude de *a* = 2). A avaliação da função da retina com base na relação *b/a* é frequente em Oftalmologia Humana porque em situações de aumento da densidade da câmara anterior do olho e corpo vítreo, o valor de *b/a* é um indicador de alterações na retina. (Maehara & al., 2005)

Um rácio *b/a* reduzido pode indicar lesão pós-fotoreceptores uma vez que a onda *a* reflecte somente a actividade destas células. Um rácio *b/a* aumentado é sugestivo de alterações nas camadas mais externas da retina. Os valores do rácio *b/a* variam com a intensidade da luz e

outras condições sob as quais é registado o ERG. Em condições escotópicas o rácio diminui à medida que a intensidade luminosa aumenta. (Ropstad & Narfström, 2007)

Apesar de ter sido proposto nas recomendações do ECVO o valor de 2 – 3 cd/m²/s para a intensidade de um FS, a avaliação da retina com base na relação b/a ainda não foi estabelecida para o cão. (Maehara & al., 2005)

No cão, o valor da intensidade do *flash* estimulante que produz a relação b/a = 2 só foi determinado em 2005 por Maehara e seus colaboradores. Esta equipa registou ERGs sucessivos em cães saudáveis da raça Beagle a partir de estímulos luminosos de intensidades diferentes, emitidos por um eléctrodo de córnea com um sistema LED incorporado. Os autores averiguaram que a uma intensidade de luz estimulante de 3,0 cd/m²/s alcançava a relação (amplitude da onda b/ amplitude da onda a) = 2. Este valor é semelhante àquele definido para Humanos (2 – 3 cd/m²/s) utilizando um estimulador tipo *ganzzfeld*. (Maehara & al., 2005)

Outras conclusões a reter desde estudo são:

- a onda *a* só se tornou clara a partir de valores de intensidade luminosa de 0,0144 cd/m²/s mas a partir dos 0,0075 cd/m²/s a forma da onda *b* era definida.
- quer a onda *a* quer a onda *b* atingiram os seus picos máximos (negativo para *a* e positivo para *b*) com um *flash* de luz branca de 200 e 36 cd/m²/s respectivamente; apesar do aumento da intensidade de luz estimulante, a partir destes valores não foram registadas alterações na amplitude das ondas *a* ou *b*.
- com o aumento de intensidade do estímulo luminoso a relação b/a diminui;

8.1.3 Limiar de resposta escotópica (LRE)

O LRE é a única deflecção negativa observada quando a retina adaptada ao escuro é estimulada por *flashes* de luz com intensidade abaixo daquela capaz de despoletar o aparecimento de uma *onda b*. (Yanase, Ogawa & Ohtsuka, 1996).

É uma componente do ERG com origem diferente daquela das ondas *a* e *b*. O LRE traduz a actividade mediada pelos neurónios das camadas nuclear e plexiforme internas. Foi comprovada a origem do LRE nas CG de ratos, com uma contribuição muito pequena das células amácrinas. Contudo, retinopatias com base em disfunções dos bastonetes também produzem uma redução na amplitude do LRE, porque os circuitos no interior da retina passam a dar-se de forma deficiente. (Gelatt, 2007)

Após um período de 2 horas de adaptação ao escuro, Yanase, Ogawa e Ohtsuka (1996) registaram uma série de ERGs em Beagles, com um eléctrodo de córnea e estímulos de luz branca de 8 milissegundos de duração e intensidade variável. Com uma intensidade luminosa de

-6,0 \log_{10} unidades foi registada uma primeira deflecção negativa que aumentou gradualmente de amplitude e reduziu o pico de latência à medida que a intensidade do estímulo aumentava. Aos -3,2 \log_{10} surge a *onda b* positiva, sobreposta a esta deflecção negativa, que aumentava em amplitude à medida que a intensidade do estímulo luminoso crescia. Os autores sugeriram que a primeira deflecção negativa registada pelo eléctrodo de córnea com estímulos de intensidade < -3,6 \log_{10} unidades era o LRE, à semelhança do que foi descrito para outras espécies. A amplitude máxima dos LRE variava entre os 50 e os 100 μ V para intensidade luminosas de -4.0 a -4,4 \log_{10} unidades, com um pico de latência de 75 a 96 ms. (Yanase, Ogawa & Ohtsuka,1996)

O pico negativo do LRE foi sendo progressivamente sobreposto pela *onda b* que aumentava de amplitude com flashes de luz de intensidade > -2,8 \log_{10} unidades. O TL dos LRE foi sempre inferior ao da *onda b* e a deflecção negativa da córnea que precedia a *onda b* não se extinguiu antes do aparecimento da *onda a*. (Yanase, Ogawa & Ohtsuka,1996)

Os autores concluíram igualmente que o pico de sensibilidade espectral do LRE canino correspondia àquele de absorção para a rodopsina (de 500 a 510 nm). (Yanase, Ogawa & Ohtsuka,1996)

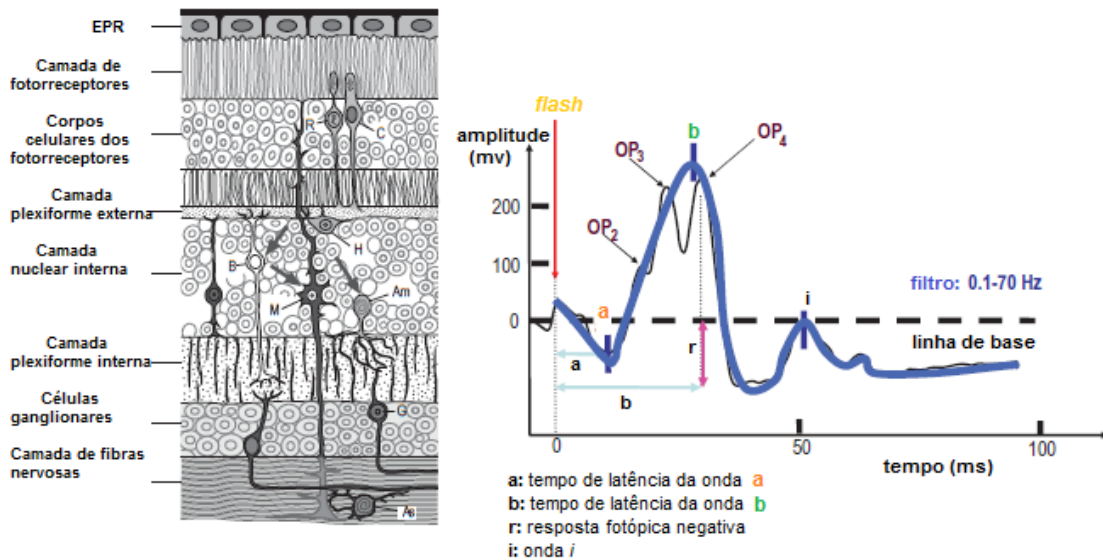
O registo de LRE é mais evidente quando é feito na ausência de luz de fundo. Com o aumento da intensidade da luz de fundo, a amplitude do LRE diminui gradualmente até desaparecer (quando intensidade luminosa > -3,5 \log_{10} unidades, valor para o qual se regista o pico máximo de amplitude da *onda b*). (Yanase, Ogawa & Ohtsuka,1996)

Concluindo, é absolutamente fundamental um longo período de adaptação ao escuro para haver registo de LRE e este é eliminado na presença de luz de fraca intensidade. O LRE é portanto um bom indicador da função da retina em condições escotópicas mas é preciso ter atenção para não confundir o LRE com a *onda a* escotópica.

8.1.4 Resposta Fotópica Negativa (RFN)

A RFN é uma resposta tardia resultante da estimulação da retina adaptada à luz por um estímulo luminoso de elevada intensidade (Gelatt, 2007) e verifica-se após o registo da *onda b*. (Rosolen, Kolomiets, Varela & Picaud, 2008)

As CG e células Amácrinas estão envolvidas nesta resposta, que se encontra reduzida em modelos experimentais com glaucoma e em pacientes Humanos com atrofia do NO, suportando a hipótese de que a RFN pode ser usada para avaliar a função das CG. (Gelatt, 2007)

Fig. 22 - Relação entre as células da retina e a origem do electroretinograma. (adaptado de Peiffer, 2009)

Esquerda: esquema da secção histológica da retina. Direita: eletroretinograma normal; onda *a*: actividade dos fotorreceptores; onda *b*: actividade das células bipolares e de Müller; OP: potenciais oscilatórios; onda *i*: actividade das CG e/ou das fibras do NO.

8.2 Avaliação do ERG

Para uma correcta interpretação e avaliação das respostas electroretinográficas devem ser avaliados, para cada onda, pelo menos dois parâmetros: amplitude e tempo de latência (TL).

Entende-se por *amplitude* da onda *a* o valor da distância que vai desde a linha de base até ao pico máximo da primeira deflecção negativa. (Narfström, Andersson, Andreasson & Gouras, 1995)

O tempo de latência (em inglês *implicit time* ou *peak time*) corresponde ao período de tempo decorrido entre o disparo do *flash* (estímulo) e o início do registo da onda (resposta). É o tempo decorrido desde o disparo do *flash* até ao registo do *apex* da onda. (adaptado de Oriá, Júnior, Honsho, Neto & Laus, 2004)

A amplitude da onda *a* mede-se desde a linha de base até à depressão da onda *a* (primeiro pico negativo). O seu TL é medido desde o instante em que ocorre o disparo do *flash* até ao pico da depressão da onda *a*. (Narfström, Ekestén, Rosolen, Spiess, Percicot & Ofri, 2002)

A amplitude da onda *b* é medida desde a depressão da onda *a* (primeiro pico negativo) até ao ponto máximo da onda *b*. O TL é medido entre o instante em que é disparado o *flash* e o instante em que a *onda b* atinge o seu pico máximo. (Narfström et al, 2002)

A amplitude das ondas é registada em microvolts (μV), enquanto o TL é registado em milisegundos (ms). (Ropstad & Narfström, 2007)

Ao considerar os parâmetros *amplitude* e *tempo de latência*, o clínico pode encontrar quatro situações diagnósticas possíveis: (Rosolen, Kolomiets, Varela & Picaud, 2008)

- Amplitude e TL normais;
- Amplitude normal e TL aumentado;
- Amplitude reduzida e TL normal;
- Amplitude reduzida e TL aumentado.

Respostas mais rápidas que o normal são consideradas uma variação do normal. (Rosolen, Kolomiets, Varela & Picaud, 2008)

É preciso ter em conta que o ERG é um potencial evocado e que apesar do seu registo ser feito na córnea, a origem do potencial encontra-se na retina. Posto isto, é perceptível que, quanto mais próximo o eléctrodo de registo (positivo ou de córnea) se encontrar da retina, maior será o potencial registado. (Rosolen, Kolomiets, Varela & Picaud, 2008)

Depois de registado o ERG, é importante verificar os seguintes aspectos:

- A qualidade técnica é satisfatória?
- A resposta é reproduzível?
- Reconhecem-se interferências ou artefactos?
- Podemos melhorar a qualidade do traçado?
- Existe uma resposta?
- Se sim, assemelha-se à resposta esperada pela avaliação oftálmica?
- É reproduzível?
- Pelas características do traçado, a retina está funcional?
- Estão presentes todas as ondas?
- A amplitude das ondas é normal?
- O TL é normal?
- A forma do traçado é normal?

9. Factores influentes no Electroretinograma

Definir valores normais para o ERG é uma tarefa difícil, uma vez que os resultados de ERG diferem significativamente com factores intrínsecos e extrínsecos ao indivíduo. São muitas as variáveis que podem influenciar o traçado do ERG e é importante saber reconhecê-las e prever o impacto que estas têm sobre esta técnica para que possam ser atempadamente eliminadas ou minimizadas, bem como para evitar erros e mal-interpretações de um traçado normal mascarado pela influência desses factores.

Ao seguir um protocolo e cumprir com o conjunto de medidas *standard* para a execução da electroretinografia, o clínico já está a contribuir para que haja um certo grau de redução destes factores e para que a interpretação dos resultados seja mais precisa.

Podemos distinguir entre o grupo de factores que influenciam a electroretinografia aqueles intrinsecamente relacionadas com o animal (biológicos) e os dependentes do equipamento (instrumentais). Dentro das variáveis biológicas, podemos ainda salientar aquelas introduzidas pelo protocolo utilizado.

No grupo das variáveis biológicas incluímos: idade, raça do cão, temperatura corporal^{###}, oxigenação sanguínea (Ropstad & Narfström, 2007) (Mentzer et al., 2005), presença de doenças concomitantes, pressão sanguínea, características condutoras dos tecidos, densidade da carga próxima da membrana celular das células da retina e número de células que sofrem de alterações do seu potencial de membrana (Komáromy, Brooks, Dawson, Källberg, Ollivier & Ofri, 2002), grau de adaptação à luz, integridade da retina, alterações na circulação sanguínea da retina e opacidade dos meios oculares. (Lee et al., 2009)

Às 8 semanas de idade o ERG do cachorro apresenta as mesmas características que o de um adulto. Com o avançar da idade o número de células fotorreceptoras e do epitélio pigmentar diminui e é expectável que a amplitude das ondas electroretinográficas seja igualmente menor. Entre os 60 dias e os 6 anos de idade esta redução pode atingir os 75%. É portanto importante que se estabeleçam valores de ERG para diferentes grupos etários. (Komaromy, Smith & Brooks, 1998).

Num estudo desenvolvido para determinar os valores normais do eletrorretinograma de campo total em cães da raça *Poodle* portadores de catarata de acordo com a faixa etária, Safatle e colaboradores também concluíram que os cães mais velhos, quando comparados aos mais jovens, apresentaram redução na amplitude das ondas correspondentes à resposta escotópica de bastonetes, fotópica de cones e de cones-bastonetes. Apesar da redução do valor da amplitude, o TL da onda *b* foi idêntico entre os grupos de diferentes idades. Os autores concluíram que, com o envelhecimento e consequente perda fisiológica dos fotorreceptores, tem maior interesse clínico medir o TL que a amplitude da onda *b*. (Safatle, Lisak, Otsuki & Gomes, 2010)

O efeito da hipoxia sobre o ERG em cães foi estudado por Murray e Borda (1984) e citado por Gelatt (2007). A onda *b* é a primeira a ser afectada pela hipoxia, sofrendo uma redução de amplitude e aumento do período de latência quando PaO é de 45 mmHg. A onda *a* é mais resistente à hipoxia severa e mantêm-se mesmo depois da onda *b* se extinguir. A

^{###} Foi identificada como responsável por alterações electroretinográficas em outras espécies e muito provavelmente afecta os traçados de ERG no cão.

hiperventilação, pelo contrário, aumenta a amplitude da onda *b* em cães anestesiados. Este aumento pode ser explicado pela redução da PCO_2 . (Gelatt, 2007)

A hora do dia, exposição prévia à luz intensa, grau de midríase, posição do globo ocular na órbita, posição do paciente, distância entre o cão e o estimulador, escolha do agente sedativo/anestésico e profundidade da anestesia e fármacos administrados são variáveis biológicas introduzidas pelo protocolo e técnica de ERG utilizados. (Mentzer et al., 2005)

Dentro do grupo de factores instrumentais encontramos as variações no equipamento estimulador e de registo da actividade eléctrica (incluindo o tipo de eléctrodos de referência), intensidade da luz ambiente, tempo de estimulação luminosa, intensidade do estímulo luminoso, protocolo anestésico e condições experimentais. (Lee et al., 2009).

Para tornar possível a comparação de registos de ERG entre cães, os diferentes tipos de eléctrodos positivos e a posição dos eléctrodos de referência devem ser standardizados, bem como muitos dos outros factores que alteram o registo do ERG. (Mentzer et al., 2005)

A resistência e, conseqüentemente, a tensão dos sinais electroretinográficos variam muito entre cães quando é utilizado um eléctrodo de referência cutâneo dada a grande variedade no tamanho e conformação do crâneo entre diferentes raças. (Narfström et al., 2002)

10. O relatório de ERG.

Pelas recomendações do ECVO para a elaboração de um relatório de ERG de cão, com fim a publicação científica, deve constar:

- Uma imagem do electroretinograma do(s) cão(ões) em estudo, juntamente com o traçado normal registado a partir de um controlo saudável, com a mesma idade e raça, submetido ao mesmo protocolo anestésico;
- Devem ser acrescentadas as barras de calibração e é recomendável a apresentação da linha de base (anterior ao início da estimulação luminosa da retina), bem como deve ser indicada a altura em que é disparado o estímulo luminoso.
- A duração da resposta registada (*sweep time* ou tempo de varredura) deve ser, rotineiramente, de 200 mS.
- O relatório clínico do ERG deve incluir o valor da amplitude e TL das ondas *a* e *b*.

11. Manifestações electroretinográficas das alterações da visão mais frequentes em canídeos.

Tabela 8 - Alterações electroretinográficas presentes nas patologias que conduzem a cegueira em canídeos.
(adaptado de Slatter, 2008)

ALTERAÇÕES ELECTRORETINOGRÁFICAS EM DIVERSAS SITUAÇÕES QUE CONDUZEM A CEGUEIRA		
PATOLOGIA	ELECTRORETINOGRAMA	COMENTÁRIOS
Cataratas	Erg pode indicar função normal da retina, APR ou DSAR	O ERG é muito importante para avaliar a funcionalidade da retina quando a fundoscopia é impossível (por ex. por opacidade da lente); deve ser sempre realizada nos candidatos a cirurgia de cataratas para garantir que, além da catarata, não existe patologia da retina subjacente que impeça a visão.
Descolamento da Retina	O ERG pode estar normal ou alterado dependendo da duração do descolamento.	A ecografia do fundo do olho poderá ter maior interesse diagnóstico. O ERG não pode ser utilizado para determinar o prognóstico da recolocação cirúrgica da retina
Cegueira cortical	Resposta normal.	O ERG é útil para diferenciar cegueira de origem cortical de retiniana.
Neurite do NO e atrofia do NO	Resposta normal.	O ERG é útil em situações de neurite retrobulbar, quando o exame oftálmico não evidencia qualquer lesão.
Glaucoma	Resposta do ERG por <i>flash</i> é normal em casos de glaucoma de diagnóstico precoce, onde a PIO não atingiu valores muito elevados; está ausente em situações de glaucoma crónico ou em estado avançado ou em crises de hipertensão ocular quando a PIO é muito elevada.	Quando o diagnóstico de glaucoma é precoce e em situações onde a PIO não é muito elevada há perda de células ganglionares sem haver, contudo, alterações na resposta de ERG por <i>flash</i> . Em estádios mais avançados a lesão celular estende-se às camadas mais externas da retina conduzindo a alterações do ERG. O ERG por <i>flash</i> não é um meio de diagnóstico de glaucoma.
Hemeralópia	Resposta dos bastonetes é normal; ausência da resposta dos cones.	O ERG é fundamental para o diagnóstico definitivo uma vez que o fundo está normal à oftalmoscopia.
Cegueira noturna estacionária congénita ou distrofia hereditária da retina	Redução da amplitude da <i>onda b</i> e aumento da amplitude da <i>onda a</i> .	O ERG é essencial para diagnóstico definitivo, uma vez que o fundo está normal à oftalmoscopia.
Displasia dos fotorreceptores	Redução da função dos bastonetes/cones dependendo do tipo de doença.	O ERG é essencial para diagnóstico definitivo, uma vez que o fundo está normal à oftalmoscopia.
Degenerescência hereditária dos bastonetes-cones (APR; prcd)	Redução da função dos bastonetes (respostas anormais após adaptação ao escuro ou à luz e frequência de fusão <i>flicker</i> alterada) progredindo para atenuação de todas as respostas do ERG.	O ERG pode ser diagnóstico meses a anos antes de aparecerem os primeiros sintomas.
Distrofia do EPR	O ERG pode apresentar uma resposta normal até se atingirem estádios avançados da doença.	O exame oftalmoscópico é diagnóstico; ERG sem utilidade diagnóstica.
Distrofia da retina no Briard	O ERG identifica alterações congénitas na função dos bastonetes.	O ERG permite distinguir distrofia dos bastonetes da distrofia do EPR, apesar de ambos serem provocados por alterações do EPR.
Degenerescência súbita e adquirida da retina	Respostas do ERG estão ausentes.	O ERG é essencial para diagnóstico definitivo uma vez que o fundo é normal à oftalmoscopia.

IV. ESTUDO CLÍNICO DE 7 ELECTRORETINOGRÁFIAS REALIZADAS NO HVR.

1. INTRODUÇÃO

Foi realizada uma apresentação de casos e estudo dos resultados obtidos na electroretinografia de campo total por *flash* de sete cães referenciados ao Hospital Veterinário do Restelo no período compreendido entre Setembro de 2009 a Fevereiro de 2010. Dos sete ERGf realizados, um corresponde ao de um cão com história de perda súbita de visão e os restantes a cães com cataratas e candidatos a facoemulsificação.

2. OBJECTIVOS DO ESTUDO

Com o presente estudo pretende-se:

- correlacionar os achados do exame oftalmológico, nomeadamente a presença/ ausência de RPL, resposta de ameaça e de Dazzle com os resultados electroretinográficos;
- relacionar a etiologia das cataratas com o envolvimento de patologias da retina;
- perspectivar a incidência e o tipo de patologias da retina que, na presença concomitante de cataratas, desclassificam os pacientes caninos como possíveis candidatos a facoemulsificação;

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Na apresentação à consulta de oftalmologia todos os pacientes realizaram um exame oftalmológico completo que incluiu: teste de Schirmer; avaliação dos reflexos pupilares à luz e consensual; reflexo de Dazzle e resposta de ameaça; exame com luz de fenda (SL-15 Portable Slit Lamp, Kowa) e tonometria por aplanção (TONO-PEN[®]VET, Medtronic). Dada a opacidade que a lente com cataratas impõe à observação do fundo do olho, nem sempre foi possível realizar a observação oftalmoscopia directa (Welch Allyn[®] Oftalmoscópio Directo) e indirecta (Welch Allyn[®] Oftalmoscópio Indirecto) do fundo dos olhos afectados. Todos os cães incluídos neste estudo foram submetidos a ecografia ocular.

3.1. APRESENTAÇÃO DOS CASOS CLÍNICOS: Resenho e anamnese.

3.1.1. Zookie

O cão Zookie é um Golden Retriever de 2 anos de idade que se apresentou à consulta de oftalmologia por queixa de “opacidade azulada” no OD.

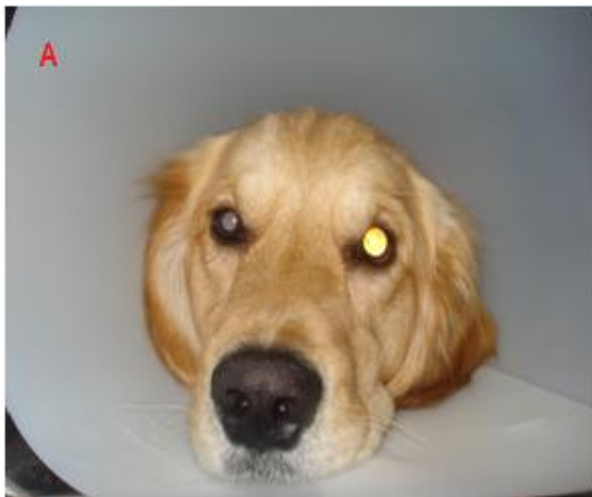
Com base no exame oftálmico, idade precoce à data da apresentação, raça e *anamnese*, foi feito um diagnóstico de cataratas congénitas. A ausência de história de inflamação ocular (por

trauma ou doença infecciosa), diabetes ou outras alterações metabólicas, deficiências nutricionais ou intoxicação excluiu a hipótese etiológica de cataratas secundárias.

O exame oftálmico revelou a presença de cataratas OU, madura no OD e incipiente no OE. Além da catarata, o OD apresentava quistos de íris e uveíte facolítica, com diminuição da PIO (10 mmHg). Todos os reflexos testados estavam presentes.

Foi sugerida a facoemulsificação do OD e o Zookie foi submetido a um ERG para avaliação pré-operatória da retina.

Fig. 23 - Zookie: cataratas



A – catarata madura congénita OD; reflexo tapetal OE.

B – ampliação OD.

3.1.2. Bijoux

O Bijoux é um cão Yorkshire Terrier de 3 anos de idade que se apresentou à consulta de oftalmologia para avaliação de uma “opacidade” de evolução rápida no olho OD. De salientar no exame oftálmico do Bijoux é a presença de catarata congénita OD e PIO tendencialmente baixa OU. O diagnóstico de catarata congénita foi feito com base na idade precoce à data da apresentação, na sua predisposição racial e *anamnese* compatível. O Bijoux não apresentava história de inflamação ocular (por trauma ou doença infecciosa), diabetes ou outras alterações metabólicas, deficiências nutricionais ou intoxicação excluindo-se a hipótese etiológica de cataratas secundárias.

3.1.3. Mimi

A Mimi é uma cadela de 9 anos de idade, sem raça determinada, seguida no HVR para controlo de Diabetes *mellitus*. A Mimi apresentou-se à consulta de oftalmologia por motivos de redução da capacidade visual e cataratas. No exame oftálmico foram identificadas cataratas bilaterais maduras (secundárias a Diabetes *mellitus*). Os reflexos pupilar à luz, consensual, de ameaça e Dazzle estavam presentes. A PIO era normal OU e a oftalmoscopia directa e indirecta foi impossível devido à densa opacidade do cristalino. Na ecografia ocular não foi observado descolamento da retina ou outras alterações além da hiperecogenicidade do cristalino.

Foi sugerido facoemulsificação e a Mimi foi submetida a electroretinografia para avaliação da função da retina antes da cirurgia.

3.1.4. Whisky

O cão Whisky é um Labrador do Retriever de 3 anos de idade com diagnóstico prévio de *Erlischiose* e cataratas bilaterais maduras que foi referenciado ao HVR para avaliação oftálmica e eventual resolução das cataratas por facoemulsificação.

O Whisky desenvolveu cataratas bilaterais após um episódio agudo de *rickettsiose* provocada por *Erlichia canis*. Distinguir cataratas inflamatórias (facolíticas ou induzidas por uveíte) de cataratas primárias é um desafio clínico, sobretudo quando se trata de um cão jovem de raça predisposta a cataratas congénitas. A *anamnese* e o exame oftálmico são, portanto, decisivos. Neste caso em particular, dado o diagnóstico prévio de *Erlichise*, o aparecimento súbito de cataratas bilaterais associadas a uveíte e as alterações degenerativas da cápsula posterior do cristalino permitem classificar as cataratas como inflamatórias.

À apresentação, o Whisky já não apresentava sinais de uveíte anterior visíveis com a lâmpada de fenda mas a PIO estava baixa OU (10 OE; 9 OD). À ecografia ocular foram observados detritos inflamatórios soltos na câmara vítrea, coágulos na zona ventral da retina e condensações corticais posteriores do cristalino.

Foi sugerido facoemulsificação para resolução das cataratas e o Whisky foi sujeito a um ERGf previamente à cirurgia para avaliação da função retiniana.

3.1.5. Nevão

O Nevão é um Samoyedo de 9 anos de idade referenciado ao HVR para avaliação oftálmica. Tinha história de perda súbita de visão e na consulta o Nevão apresentava-se midriático; com ausência de reflexos pupilares à luz, de Dazzle e de resposta de ameaça; a PIO OU era normal e a oftalmoscopia directa e indirecta não revelaram alterações fundoscópicas significativas. A

ecografia ocular não foram identificadas alterações do cristalino, da câmara posterior, da retina ou das estruturas moles em redor do globo.

O clínico de referência tinha realizado um teste de estimulação com ACTH para despiste de hiperadrenocorticism, mas a produção de cortisol encontrava-se dentro dos valores considerados fisiológicos. No HVR foi feito despiste de hipotiroidismo e o resultado da determinação dos valores séricos de TSH e T4 total foram compatíveis com o diagnóstico de hipotiroidismo.

O Nevão foi submetido a um ERGf para diferenciar causas de cegueira com origem na retina ou central.

3.1.6. Athos

O Athos é um canídeo da raça Cocker Spaniel com 11 anos de idade referenciado à consulta de oftalmologia do HVR com queixa de perda progressiva de visão. O Athos foi previamente diagnosticado com hipotiroidismo pelo médico de referência.

No exame oftálmico com lâmpada de fenda foram identificadas cataratas maduras OU. Os RPL, consensual e de ameaça estavam presentes mas com uma resposta lenta e de baixa amplitude. A PIO era normal OU e a fundoscopia foi impossível OU devido à opacidade do cristalino. Na ecografia ocular foi observada uma condensação do cristalino OU e não foram observadas alterações da câmara posterior do olho, da retina ou das estruturas moles em seu redor.

A perda progressiva de visão associada à redução da resposta pupilar à luz, resposta de ameaça e predisposição da raça para situações de degenerescência dos bastonetes-cones sugere que o Athos possa ter, além das cataratas, uma APR.

Foi sugerido realizar um ERGf para despiste de retinopatias.

3.1.7. Billy

O Billy é um canídeo de raça Caniche com 12 anos de idade que se apresentou à consulta de oftalmologia para avaliação de cataratas. No exame oftálmico com lâmpada de fenda foram identificadas cataratas hiper maduras OU. Os reflexos testados estavam presentes mas com uma resposta reduzida. A fundoscopia foi impossível devido ao aumento de espessura e opacidade do cristalino. A ecografia ocular revelou apenas o espessamento bilateral do cristalino.

Foi sugerida a resolução cirúrgica das cataratas e realizou-se o ERf antes da cirurgia.

Tabela 9 - Resumo da história e exame oftálmico. (N – normal; P – presente; A – ausente; R - reduzido)

NOME	IDADE (anos)	RAÇA	RPL / CONS	DAZZLE	AMEAÇA	SCHIRMER ^{§§§§}	PIO ^{*****} mmHg	LAMPADA DE FENDA	ECO. OCULAR	RESUMO
ATHOS	11	Cocker Spaniel	R, OU	R, OU	R, OU	N, OU	N, OU	Cataratas madura OU;	Espessamento do cristalino OU	Perda progressiva de visão; Suspeita APR Hipotiroideu
BIJOUX	3	Yorkshire	N, OU	P, OU	P, OU	N, OU	Normal OU mas tendencionalmente alta	N, OE OD com catarata	Espessamento do cristalino OD	OD com catarata congénita de evolução rápida; OE normal
ZOOKIE	2	Golden Retriever	N, OU	P, OU	P, OU	N, OU	Baixa OD (10), N OE	Quistos na íris; uveíte facolítica OD; Cataratas congénitas, incipiente OE e matura no OD	Espessamento do cristalino OD	Cataratas congénitas, incipiente OE e matura no OD
BILLY	12	Caniche	N, OU	P, OU	P, OU	N, OU	N, OU	Cataratas hiper maduras OU	Espessamento do cristalino OU	Cataratas senis OU
MIMI	9	SRD	N, OU	P, OU	P, OU	N, OU	N, OU	Cataratas madura OU	Espessamento do cristalino OU	Cataratas diabéticas OU
NEVÃO	9	Samoyedo	A, OU	A, OU	A, OU	N, OU	N, OU	N, OU	N, OU	Perda súbita de visão. Hipotiroideu
WHISKY	3	R. do Labrador	N, OU	P, OU	P, OU	N, OU	OE 10 mmHg; PIO OD 9 mmHg.	Sem sinais de uveíte no exame com lâmpada de fenda; vacuolização e condensação da cápsula posterior do cristalino OU.	OD: fibrina solta no vítreo; cápsula posterior irregular com condensações cortico-capsulares; coágulo na zona ventral da retina	Cataratas maduras OU, mais avançada no OD e secundárias a <i>Erlchiose</i>

§§§§ Teste de Schirmer normal: » 15 mm/ min.

***** PIO normal: 15 a 25 mmHg

3.2. EQUIPAMENTO

Para gerar os estímulos luminosos, registrar e analisar os resultados obtidos foi utilizado o sistema de ERG *Visiosystem*® (Dioptrix, França), instalado num computador regular destinado exclusivamente a este efeito.

Os eléctrodos positivos utilizados são do tipo conjuntival e foram colocados na zona perilimbar superior do globo ocular. O eléctrodo de referência é de agulha e foi colocado sistematicamente na região auricular. O eléctrodo terra foi inserido sobre a crista occipital.

Os olhos mantiveram-se abertos por tracção manual da pálpebra superior com o próprio eléctrodo positivo.

Foram utilizadas fotoestimuladores do tipo difusor óptico que consistem em dois dispositivos independentes com uma lâmpada de xénon cada. Cada um dos fotoestimuladores liberta *flashes* de luz com a mesma intensidade e frequência simultaneamente, permitindo um registo para OU ao mesmo tempo.

Cada fotoestimulador é colocado 5 a 10 cm de distância dos olhos. Este equipamento utiliza filtros de 25Hz e 300Hz.

Para permitir uma boa imobilização do corpo e isolamento térmico e eléctrico os cães foram deitados sobre uma almofada de poliestireno expandido e a cabeça apoiada sobre uma almofada.

Fig. 24 (esquerda) - Eléctrodos de ERG: conjuntivais (positivos), auriculares (referência) e occipital (terra).

Fig. 25 (direita) - Eléctrodos conjuntivais.

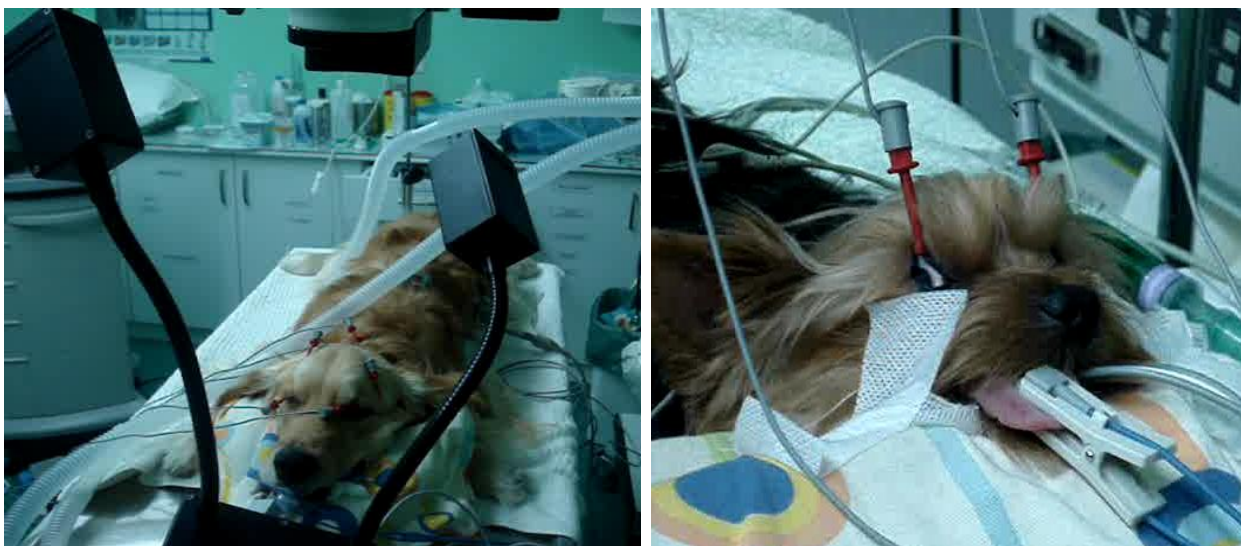


Fig. 26 - Fotoestimuladores tipo difusor óptico.

3.3. TÉCNICA

3.3.1. Preparação do Paciente:

Antes de serem submetidos a anestesia, todos os cães foram sujeitos a um exame de estado geral e foram realizadas análises pré-anestésicas (hemograma e painel bioquímico geral para avaliação hepática e renal). Todos os candidatos a ERGf reuniram condições favoráveis para ser submetidos a anestesia.

No dia da realização do ERGf os pacientes foram admitidos em jejum e alojados confortavelmente no internamento de cães sem doenças infecto-contagiosas.

A cada cinco minutos durante os vinte minutos que precederam a realização do ERG foi aplicada uma gota de tropicamida em colírio (Tropicil[®]) OU para conseguir atingir o máximo grau de midríase. A medicação pré-anestésica administrada foi midazolam (Midazolam B-Braun; 0,2 mg/kg, iv) e butorfanol (Butador; 0,025 mg/kg, im). A indução anestésica foi feita com propofol (Propofol[®] Lipuro 1%; 1-2 mg/kg até indução anestésica) e a manutenção da anestesia assegurada com isoflurano (IsoFlo[®], administrado por tubo endotraqueal).

3.3.2. Protocolo

Em todos os animais submetidos a electroretinografia, independentemente do objectivo clínico, foi utilizado o protocolo curto do ECVO para obter uma resposta rápida e grosseira da função da retina.

No sentido de reduzir ao máximo as variáveis extrínsecas, o exame foi realizado sempre na mesma sala, procurando manter constantes as variáveis ambientais, e o protocolo anestésico seguido foi o mesmo para todos os cães.

Os ERGs foram realizados com o software *Visiosystem*® (Dioptrix, França) que permite realizar vários protocolos pré-programados de ERG.

Na resposta escotópica de bastonetes foram utilizados estímulos luminosos com 0,02-0,03 cd/m²/s. de intensidade. Na resposta fotópica foram utilizados estímulos luminosos com 2-3 cd/m²/s. de intensidade.

3.3.3. Registo dos resultados

Cada resposta representa uma média dos resultados obtidos ao disparo de 5 *flashes* luminosos. O electroretinograma é apresentado numa janela de 250 ms sendo referidos os valores de amplitude das ondas *a* e *b*, bem como o TL destas ondas. A amplitude da onda *a* foi medida desde a linha de base até à sua depressão e a amplitude da onda *b* foi medida desde a depressão da onda *a* até ao pico da onda *b*. O TL foi medido entre o momento em que o *flash* foi disparado até se registarem os pico negativo e positivo das onda *a* e *b*, respectivamente. Em cada ERG apresentado, a letra D corresponde ao OD e a letra G ao OE.

4. RESULTADOS

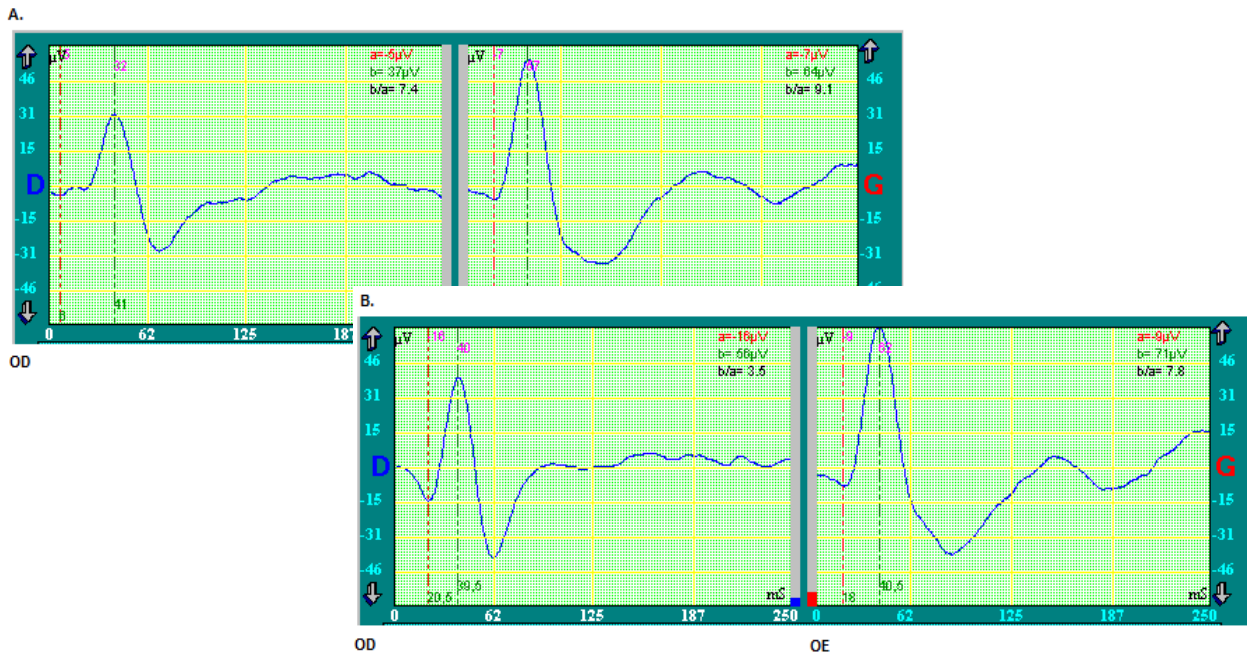
Para interpretar cada ERG e concluir sobre a função da retina, foram avaliados os seguintes parâmetros:

- Qualidade técnica: satisfatória (interpretável) vs. não satisfatória (não interpretável);
- Se a resposta é compatível com os achados clínicos;
- Amplitude das ondas *a* e *b* (µV; normal vs. diminuída)
- Tempo de latência ondas *a* e *b* (ms; normal vs. reduzido)
- Forma do traçado (normal vs. anormal)

4.1. Zookie (3.1.1): Cataratas congénitas.

A qualidade e forma do traçado são satisfatórias e permitem a interpretação do ERGf. São identificadas as curvas *a* e *b* em condições escotópicas e fotópicas OU e o TL de cada uma é apropriado.

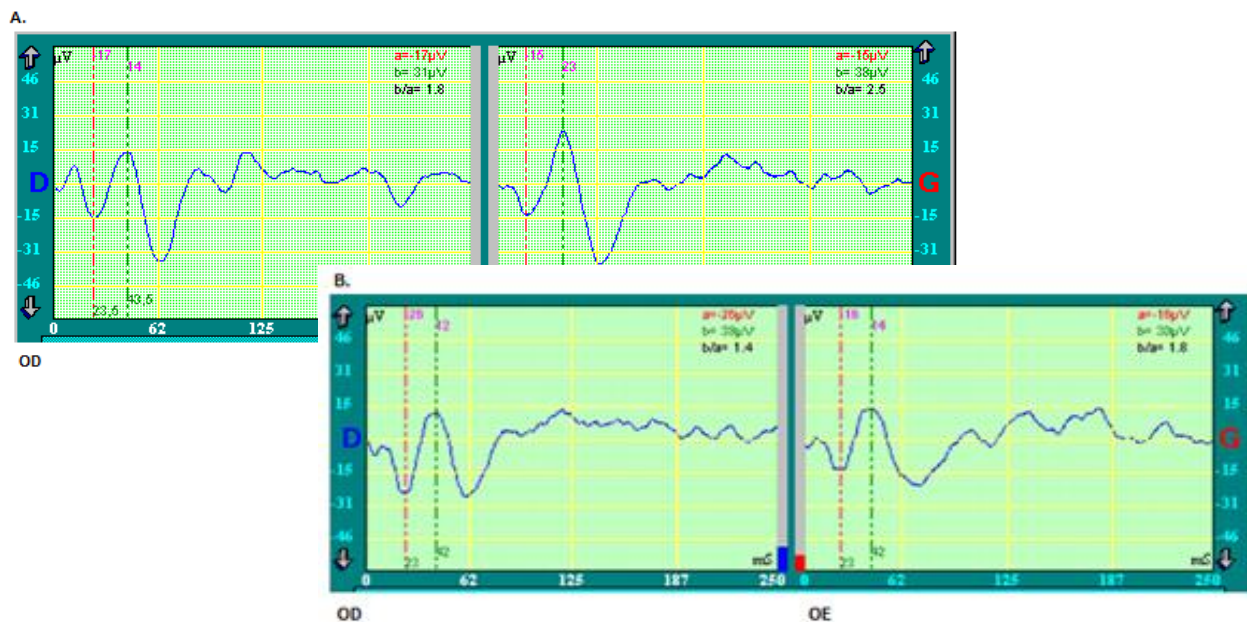
Fig. 27 - ERG do Zookie: A. Escotópico; B. Fotópico.



4.2. Bijoux (3.1.2): Cataratas congénitas.

O cão Bijoux, Yorkshire, apresenta catarata apenas no OD. Neste caso, o OE pode servir como referência de controlo. A qualidade e forma do traçado são satisfatórias, permitindo a sua interpretação. São identificadas ondas *a* e *b* em condições escotópicas e fotópicas OU, com respostas rápidas e de amplitude normal. O tempo de latência para cada uma delas é apropriado.

Fig. 28 - ERG Bijoux : A. Escotópico; B. Fotópico.

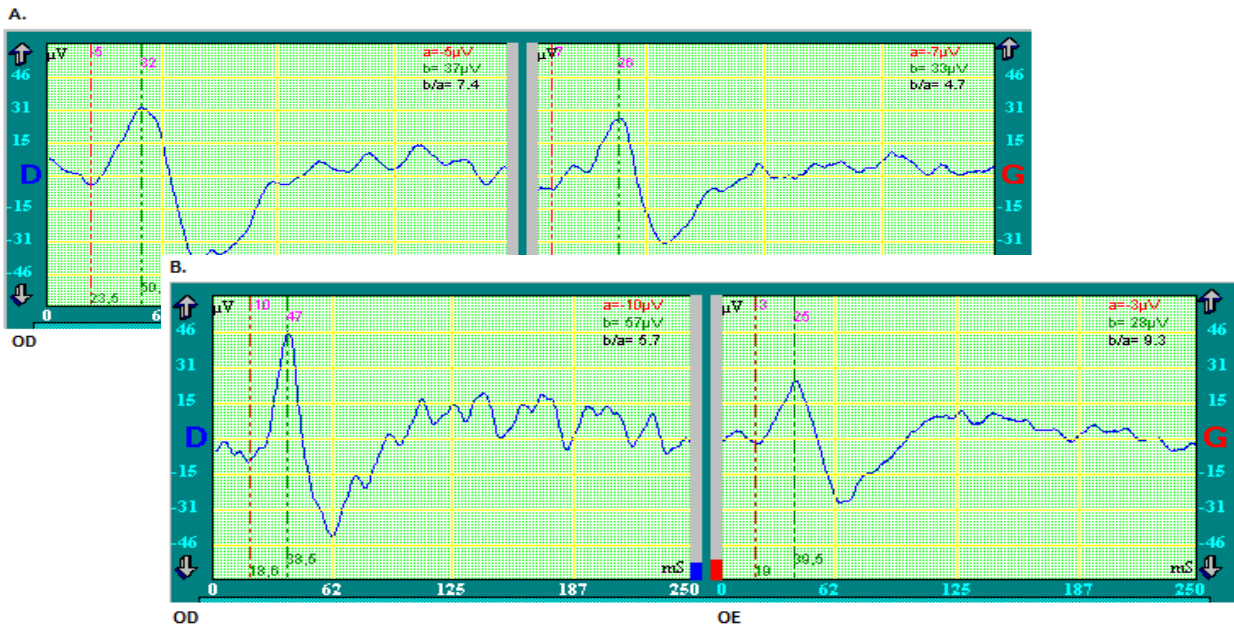


4.3. Mimi (3.1.3): Cataratas diabéticas.

Para a Mimi, o ERG registado quer em condições fotópicas quer escotópicas é interpretável, reproduzível e indicativo de boa função retiniana.

Em condições escotópicas foi registada uma onda *a* e *b* OU, com amplitudes normais e semelhantes OU. Os tempos de latência são adequados OU. Em condições fotópicas os tempos de latência das ondas *a* e *b* são semelhantes OU, mas a amplitude das ondas *a* e *b* é significativamente maior no OD.

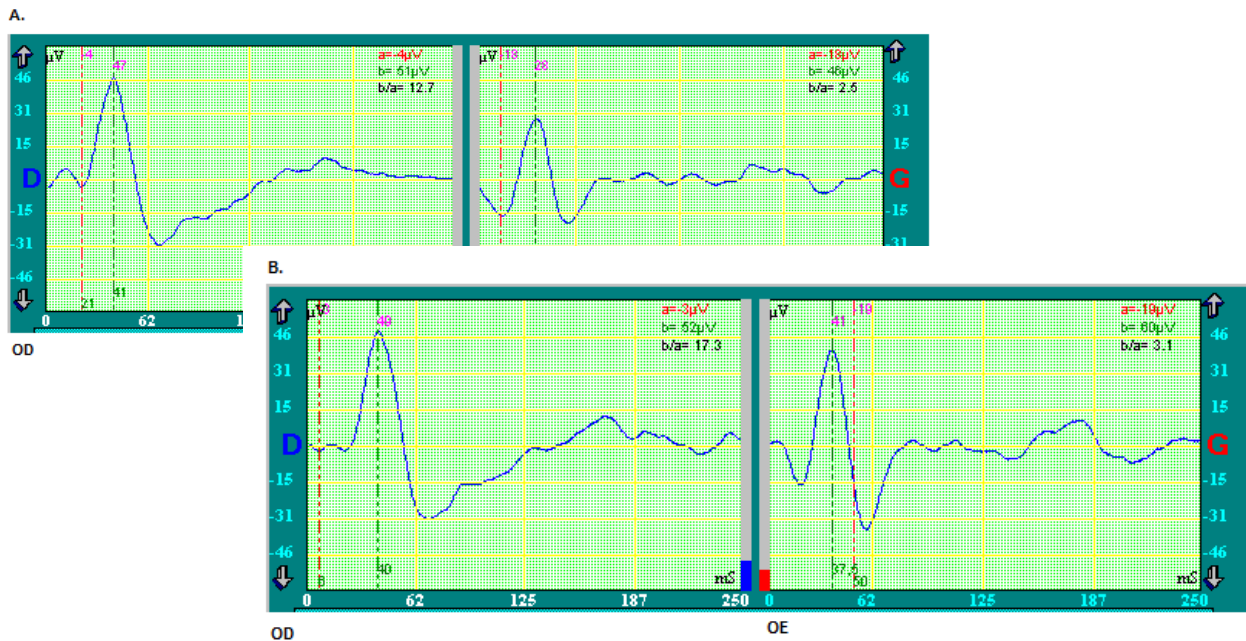
Fig. 29 - ERG da Mimi: A. Escotópico; B. Fotópico.



4.4. Whisky (3.1.4): Cataratas inflamatórias.

O ERG, gravado em condições fotópicas e escotópicas para o OD e OE, apresenta um traçado legível, onde são reconhecidas as ondas *a* e *b*. Comparativamente ao OE, a amplitude das ondas *a* fotópica e escotópica do OD são menores. As ondas *b* registadas para cada olho em condições fotópicas e escotópicas apresentam, aproximadamente, os mesmos valores de amplitude e TL.

Este resultado pode estar relacionado com a intensidade luminosa captada pelos fotorreceptores. A catarata do OD apresentava-se mais madura que a do OE e espera-se que a quantidade de luz que a atravessa em direcção à retina seja menor comparativamente com o OE. Podemos excluir que este achado se deve a uma adaptação insuficiente ao escuro porque ocorre somente em um olho e apenas na onda *a*.

Fig. 30 - ERG do Whisky: A. Escotópico; B. Fotópico.

4.5. Nevão (3.1.5): Perda súbita de visão e hipotireoidismo.

No primeiro electroretinograma registado para o Nevão (fig. 30) não era reconhecível a linha basal e não eram identificáveis as ondas *a* e *b* fotópicas e escotópicas. Apresentava interferência e ruído, pelo que é era impossível a sua interpretação. Esta situação poderia resultar de:

- posicionamento incorrecto dos eléctrodos de córnea e de referência;
- conectividade deficiente dos cabos de ligação dos eléctrodos ao sistema informático;
- presença de outros aparelhos eléctricos na sala;
- desajuste da impedância dos eléctrodos;
- desajuste de configuração dos filtros e amplificadores.

Para uma correcta avaliação da função da retina deste cão foi necessário repetir o ERG. Os eléctrodos foram limpos e reposicionados, todo o equipamento eléctrico desnecessário para a realização deste procedimento foi desligado e as configurações do *software ERG Visiosystem* @ para o protocolo curto foram revistas.

Fig. 31 - Nevão: A. Escotópico; B. Fotópico.

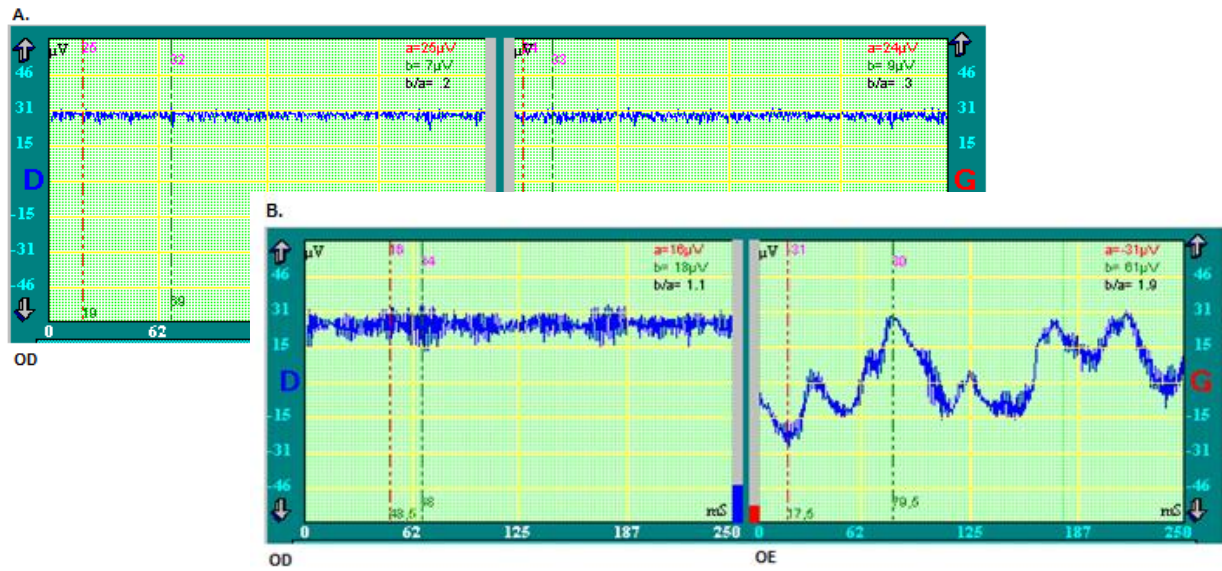
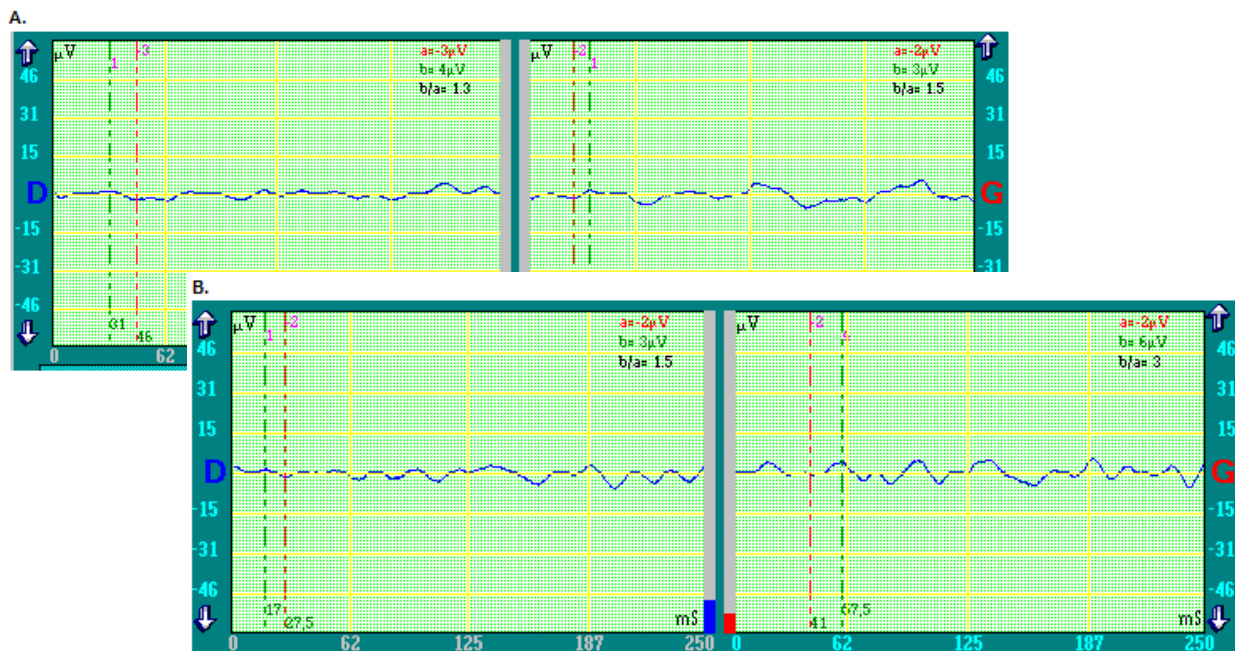


Fig. 32 - Nevão: repetição do ERG. A. Escotópico; B. Fotópico

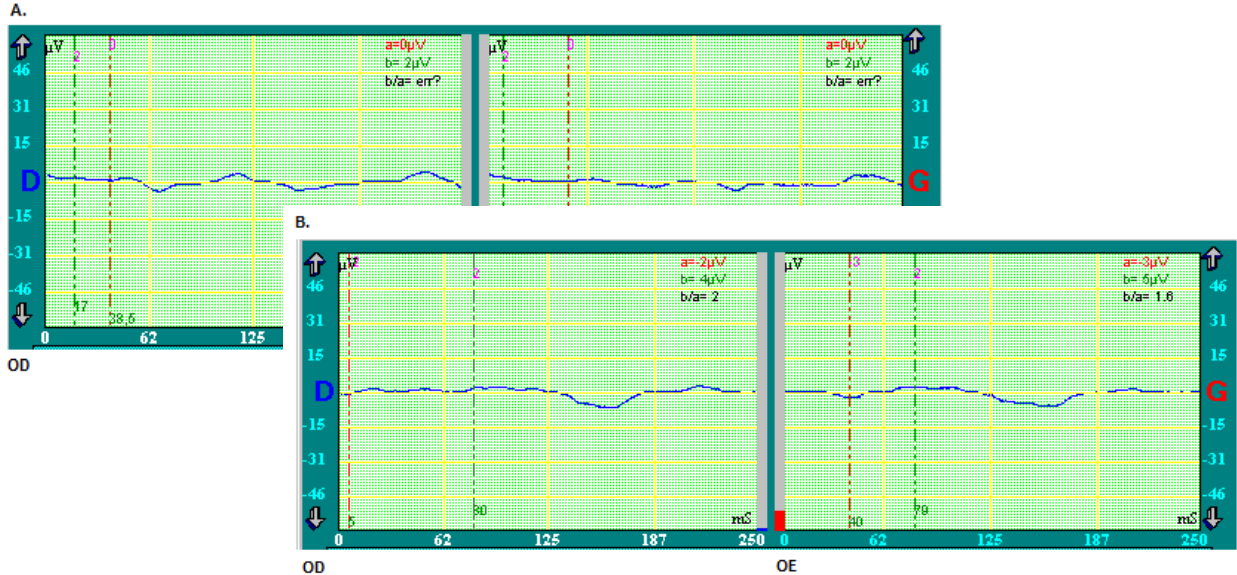


Após correcção dos factores de ruído e repetido o ERGf (fig. 31), não são interpretáveis quaisquer deflecções positivas ou negativas da linha basal, quer em condições escotópicas quer fotópicas. A resposta electroretinográfica é *flat*.

4.6. Athos (3.1.6): História de perda progressiva de visão, cataratas e hipotiroidismo.

Não foi registada qualquer deflecção da linha basal em condições fotópicas e escotópicas OU. A resposta electroretinográfica é *flat*.

Fig. 33 - Athos: A. Escotópico; B. Fotópico.



4.7. Billy (3.1.7): Cataratas senis

O ERGf registado em condições escotópicas para o OD apresenta ondas *a* e *b* de pequena amplitude e TL normal. O OE apresenta amplitudes mais pequenas para as ondas *a* e *b* e um TL mais prolongado, comparativamente ao OD.

Em condições fotópicas são identificadas as ondas *a* e *b* OU. A amplitude da onda *a* é normal mas, comparativamente, a onda *b* regista valores reduzidos de amplitude OU. O TL é normal.

Fig. 34 - ERG Billy: A. Escotópico; B. Fotópico.

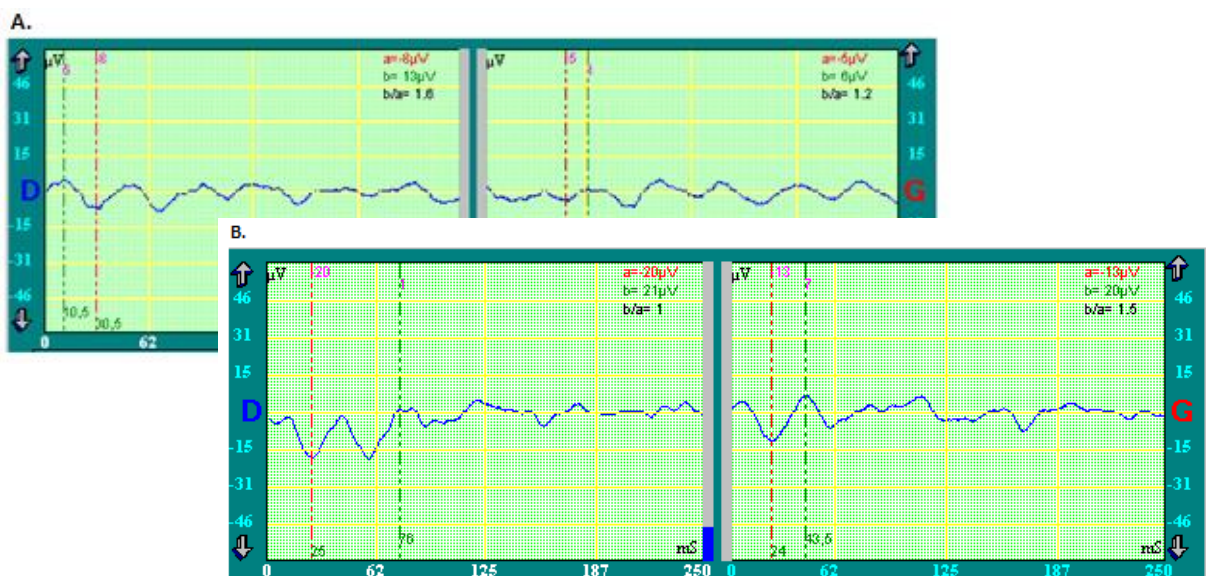


Tabela 10 – Avaliação dos ERGf estudados.

Interpretação dos electroretinogramas: amplitude (μV) e tempo de latência (ms) das ondas a e b em condições escotópicas e fotópicas.																
	Escotópico OD				Fotópico OD				Escotópico OE				Fotópico OE			
	Onda a		Onda b		Onda a		Onda b		Onda a		Onda b		Onda a		Onda b	
Nome	μV	ms	μV	ms	μV	ms	μV	ms	μV	ms	μV	ms	μV	ms	μV	ms
Whisky	-4	21	51	41	-3	8	52	40	-18	14,5	46	30	-19	37,5	60	62
Bijoux	-17	23,5	31	43,5	-26	23	38	42	-15	18	38	40	18	23	30	42
Athos	Ausência de curvas em todo o protocolo															
Mimi	-5	23,5	37	50	-10	18,8	57	38,5	-7	9	33	45	-3	19	28	39,5
Nevão	Ausência de curvas em todo o protocolo															
Billy	-6	10,5	13	30,5	-20	25	21	76	-5	48,5	6	52,5	-13	24	20	43,5
Zookie	-5	5	37	41	-16	20,5	56	39,5	-7	18	64	39,5	-9	71	18	40,5
Máximo	-17	23,5	51	50	-26	25	57	76	-18	48,5	64	52,5	-19	71	60	62
Mínimo	-4	5	13	30,5	-3	8	21	38,5	-5	9	6	30,0	-3	19	18	39,5

5. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

5.1. Zookie (3.1.1) e Bijoux (3.1.2): Cataratas congénitas.

Quer o Golden Retriever quer o Yorkshire Terrier são duas raças com predisposição para o desenvolvimento de cataratas congénitas, mas também para o desenvolvimento de APR. (Ophthalmologists, 2007)

Um estudo recente de Maehara e colaboradores (2007) sobre a influência de cataratas em diferentes estádios de desenvolvimento e a presença de uveíte induzida por cataratas (UIC) menciona estudos prévios onde se verificou que cães com cataratas e retina normal mostraram uma redução da amplitude das ondas de ERG. O estudo citado refere as diferenças encontradas em ERGs de cães com cataratas em diferentes estádios de evolução, antes e após cirurgia, e constata que o efeito da opacidade do cristalino no ERG se manifesta por uma redução de amplitude de todas as ondas, enquanto que em situações de UIC⁺⁺⁺⁺ verifica-se uma redução na amplitude da onda *b* e, conseqüentemente, no rácio *b/a*.

No caso do Zookie a amplitude da onda *b* do OD é moderadamente inferior à registada para o OE, em condições fotópicas e escotópicas. Segundo Maehara e colaboradores (2007), verifica-se uma associação entre a redução da amplitude da onda *b* e UIC. Esta hipótese também é aqui verificada, uma vez que, na apresentação, o Zookie evidenciava sintomas de uveíte facolítica no OD.

⁺⁺⁺⁺ Manifestada por hiperémia conjuntival, ingurgitamento episcleral, *flare*, hiperpigmentação da íris (...) entre outros.

O Zookie fez facoemulsificação do OD e no pós-operatório recuperou completamente a visão deste olho.

5.2. Mimi (3.1.3): Cataratas diabéticas

A manifestação ocular de doenças endócrinas mais comum e melhor documentada em cães são as cataratas secundárias a Diabetes *mellitus*. Estima-se que 75% dos pacientes caninos com D. *mellitus* desenvolvem cataratas num período de 12 meses desde o início da doença. (Plummer, Specht & Gellat, 2007)

As cataratas diabéticas decorrem de uma alteração do metabolismo da glucose no cristalino. O cão, comparativamente a outras espécies, apresenta uma prevalência relativamente alta de Diabetes *mellitus*. Esta espécie, por exemplo em oposição ao Homem e ao Felinos, também apresenta uma susceptibilidade única para desenvolver cataratas secundárias a D. *mellitus*. (Beam, Correa & Davidson, 1999).

Além das cataratas, podem surgir outras complicações oculares desta doença endócrina, tais como a UIC, atraso na cicatrização da córnea, neuropatia da córnea, alteração do metabolismo lipídico e lesões da retina. (Plummer, Specht & Gellat, 2007)

As cataratas diabéticas são de rápida formação e por isso o risco de desenvolvimento de uveíte facolítica secundária é maior. As proteínas da cápsula do cristalino que derramam para o interior do olho induzem uma reacção inflamatória. (Plummer, Specht & Gellat, 2007)

A retinopatia diabética está associada a um controlo glicémico deficiente. Traduz-se, entre outros, pela formação de hemorragias e microaneurismas dos vasos da retina, provavelmente secundários à isquémia resultante da hiperviscosidade sanguínea e hipertensão associadas à Diabetes *mellitus*. A verdadeira incidência de retinopatia diabética é difícil de determinar, uma vez que a visualização do fundo ocular é dificultada pela presença da opacidade do cristalino. (Plummer, Specht & Gellat, 2007)

Como o ERGf da Mimi evidenciava uma boa resposta da retina, foi realizada facoemulsificação bilateral. No pós-operatório esta cadela recuperou completamente a visão.

5.3. Whisky (3.1.4): Cataratas inflamatórias

A erliquiose monocítica canina também provoca, ao nível ocular, uma vasta gama de alterações inflamatórias onde a uveíte anterior e hifema são os sintomas mais evidentes. Em situações severas, apresenta-se um quadro clínico de cegueira súbita resultante de panuveíte, hemorragia e descolamento da retina, glaucoma secundário entre outros, tal como foi descrito por Harrus, Ofri, Aizenberg e Waner (1998). Nesta comunicação, os autores não fizeram

referência ao desenvolvimento de cataratas secundária a panuveíte por *Ehrlichia canis*. Contudo, está descrito que, associado a uveíte crónica moderada a severa, ocorre desenvolvimento de cataratas inflamatórias, resultantes da difusão de mediadores de inflamação através da cápsula do cristalino. (Gelatt, 2007)

O Whisky foi operado às cataratas de ambos os olhos e no pós-operatório recuperou completamente a visão.

5.4. Nevão (3.1.5): Perda súbita de visão e hipotiroidismo.

O ERGf do Nevão é *flat*, ou seja, não é registada qualquer actividade eléctrica nas células da retina OU. Este resultado, relacionado com história de perda súbita de visão e ausência de RPL, ameaça e consensual no exame oftálmico OU, permite estabelecer o diagnóstico de DSAR.

Em 2008, Durieux, Rigaudière, LeGargasson e Rosolen apresentaram um estudo de casos sobre as alterações electroretinográficas em cães hipotiroideos, com e sem suplementação com levotiroxina. Nesta apresentação de 3 casos clínicos, os autores mencionam um estudo prévio em ratos que, após tiroidectomia, demonstraram um prolongamento do TL da onda *b* (confirmando a elevada sensibilidade da retina para a hormona da tiróide) e um segundo mais recente que demonstra o papel indispensável das hormonas tiroideias na manutenção da taxa de renovação do segmento externo dos fotorreceptores. Os autores também fazem referência a um estudo sobre Humanos com hipotiroidismo idiopático que apresentam um aumento anormal do TL e uma redução subnormal da amplitude das respostas electroretinográficas antes do tratamento. Com as suas observações os autores constataram que a suplementação destes cães com levotiroxina acelerou o TL das respostas fotópicas e escotópicas do ERG.

No caso do Nevão, a resposta electroretinográfica nula é indicativa de muito mau prognóstico para a visão. Até à data não foi repetido o ERGf e não é possível reavaliar a função da retina após suplementação com tiroxina, pelo que se torna impossível à autora corroborar com os resultados obtidos pelo estudo de Durieux e colegas.

5.5. Athos (3.1.6): Perda progressiva de visão associada a cataratas e história de hipotiroidismo.

Não foi registada qualquer deflecção da linha basal em condições fotópicas e escotópicas OU. O ERG é *flat*. Esta situação é compatível com APR em estado avançado e enquadra-se com a história de perda progressiva de visão e com os resultados obtidos no exame oftálmico (RPL, reflexo consensual e resposta de ameaça reduzidos OU).

A presença de cataratas pode ocorrer em simultâneo com distrofia da retina. Nos processos de degenerescência da retina há libertação de substâncias tóxicas que podem levar à formação de cataratas. A sua patogénese ainda não foi provada e é controversa. Alguns autores consideram que o mesmo cão pode estar afectado pelas duas condições em simultâneo, sem estarem necessariamente envolvidas na sua etiologia. (Slatter, 2008)

O Athos não foi submetido a facoemulsificação por não apresentar uma retina funcional.

5.6. Billy (3.1.7): Cataratas senis.

Um achado consistente em cães com mais de 7 anos de idade é o desenvolvimento de uma opacidade senescente do cristalino, sobretudo a nível nuclear, resultante da sobreposição e compressão que as fibras novas do cristalino provocam sobre as fibras mais velhas e, hipoteticamente, do efeito oxidativo resultante da exposição solar. (Gelatt, 2007)

As cataratas senis estão associadas ao processo de envelhecimento, ocorrem nos Humanos e nos Animais (Slatter, 2008), não resultam de uma reacção metabólica na lente, mas sim de um conjunto de reacções cataratogénicas. Taylor, em *Epidemiology of age-related cataract* (1999) postulou cinco factores com importância na génese da opacidade do cristalino em pacientes humanos geriátricos. Estes são: radiação solar, dieta, diabetes, desidratação e idiopático (o último englobando todos aqueles que envolvem a influência genética sobre a formação de opacificações corticais e nucleares do cristalino, bem como cataratas subcapsulares posteriores). Contudo, a via final e mais comum pela qual o cristalino sofre opacificação é a da oxidação das proteínas da lente e peroxidação de lípidos (não obstante dos efeitos deletérios do metabolismo da glucose que, associados a alterações no potencial *redox* das células epiteliais do cristalino, exacerbam o efeito oxidativo destas alterações). (Williams, 2006)

As cataratas senis apresentam uma progressão lenta e podem levar anos até atingir a maturidade (Slatter, 2008). O Billy apresentava cataratas hiperaturas.

Vimos pelo trabalho de Maehara e colaboradores (2007), previamente referido, que a densidade e opacidade do cristalino funcionam como um filtro que interfere na quantidade de luz que chega à retina e, conseqüentemente, com a intensidade da resposta da retina a um estímulo luminoso manifestando-se por uma redução de amplitude de todas as ondas do ERGf. No ERGf do Billy as ondas *a* e *b* registadas em condições escotópicas são de pequena amplitude e TL prolongado, sugerindo algum envolvimento dos bastonetes uma vez que o mesmo não se verifica em condições fotópicas. Por opção dos proprietários O Billy só foi operado às cataratas do OD. No pós-operatório recuperou completamente a visão deste olho.

V. DISCUSSÃO GERAL

A electroretinografia de campo total por *flash* (ERGf) é um exame complementar de diagnóstico, não invasivo e de fácil execução, que avalia a integridade funcional da camada externa ou fotossensível da retina (nomeadamente dos cones, bastonetes, células bipolares e amácrinas). É um exame que testa a função da retina mas não a visão.

A ERG é de extrema utilidade e sensibilidade quando se compara a outras técnicas utilizadas com valor diagnóstico em oftalmologia, tais como a oftalmoscopia directa ou indirecta, avaliação do RPL, reflexo consensual e de ameaça. Comparativamente à oftalmoscopia permite obter resultados mais objectivos sobre o funcionamento da retina e permite caracterizar o funcionamento das diferentes células da retina.

O electroretinograma é o registo gráfico da diferença de potencial eléctrico gerada entre diferentes células da retina quando excitadas por *flashes* de luz de comprimento de onda, intensidade e duração variável e captada por três eléctrodos distintos (um positivo ou de córnea, um de referência ou temporal e um eléctrodo terra ou occipital). Os parâmetros a valorizar na interpretação do ERGf são a amplitude e TL das ondas *a* (primeira deflecção negativa) e *b* (primeira deflecção rápida e positiva após a onda *a*) que correspondem à resposta eléctrica dos fotorreceptores (cones e bastonetes) e das células de Müller e Bipolares, respectivamente.

As principais recomendações clínicas para a realização do ERG são: avaliação pré-cirúrgica do paciente com cataratas; diagnóstico precoce de retinopatias hereditárias com identificação do tipo de neurónios afectado e estabelecimento de um prognóstico; caracterização de outras alterações celulares retinianas que levam a amaurose; avaliar a funcionalidade desta estrutura do globo ocular em situações onde a sua visualização por oftalmoscopia directa ou indirecta está comprometida por opacidade dos meios oculares (por exemplo devido à presença de cataratas, edema da córnea ou hifema na câmara anterior) ou quando o exame oftálmico não revela alterações fundoscópicas ou outras num animal que se apresenta invisual à consulta e com história de perda súbita ou gradual de visão.

O Colégio Europeu de Oftalmologia Veterinária estabeleceu um conjunto de recomendações para a elaboração de electroretinografia em cães e gatos que são apresentadas sob a forma de dois protocolos aplicáveis com objectivos diferentes, mas não totalmente independentes. O primeiro protocolo, designado por *curto*, estabelece um conjunto de procedimentos cujo resultado permite determinar (na maioria dos casos) se a retina é ou não funcional. Está indicado para situações de depiste de causas retinianas ou centrais de cegueira (ex. DSAR vs. Neurite óptica

ou cegueira retiniana vs. cortical) e no rastreio pré-cirúrgico da função da retina. O segundo protocolo, *standard* ou de diagnóstico, permite separar as respostas dos cones e dos bastonetes e assim avaliar a função detalhada dos diferentes tipos de fotorreceptores com o objectivo de identificar alterações funcionais destas células.

No estudo apresentado foram avaliados cinco cães com cataratas, candidatos a facoemulsificação, e dois cães com história de perda progressiva e súbita de visão. Estes animais foram assistidos no HVR no período compreendido entre Setembro de 2009 e Fevereiro de 2010. Aqueles candidatos a facoemulsificação foram submetidos, antes da cirurgia, a electroretinografia binocular de campo total por *flash* pelo protocolo curto do ECVO. As cataratas são uma das principais causas de cegueira tratável em cães. Em estádios mais avançados de maturação impedem o exame oftalmoscópico do fundo do olho, condicionando a observação da retina e o diagnóstico de patologias retinianas (tais como a APR e a DSAR) e que inviabilizam a cirurgia. A electroretinografia é, portanto, um exame pré-cirúrgico obrigatório sempre que se pretende resolver cirurgicamente as cataratas.

A ERGf, como meio auxiliar de diagnóstico, deve ser interpretada em conjunto com a história clínica e achados clínicos ou experimentais, que incluem outros métodos de avaliação oftálmica tais como a avaliação das vias nervosas oculares (reflexos pupilar à luz, de ameaça e consensual), a oftalmoscopia directa e indirecta e a ecografia ocular.

Para obter resultados viáveis é importante que o procedimento seja normalizado e um mesmo protocolo seja seguido cada vez que o exame se realiza. Esse protocolo deve incluir: tipo de anestésicos, tempo de adaptação ao escuro e à luz, tipo de eléctrodo de referência e o seu local anatómico para fixação bem como o tipo de filtros utilizado.

O traçado normal, registado sob as mesmas condições ambientais e protocolo, apresenta variações significativas entre indivíduos de raça e idade diferentes (mesmo entre animais com uma resposta normal). Para tornar mais precisa a interpretação dos resultados, deveriam ser previamente estabelecidos, para o equipamento em questão e a partir de cães saudáveis categorizados por raça e idade, os valores *cutt – off* de cada parâmetro analisado.

A presença de RPL e de encadeamento são respostas subcorticais e não devem ser interpretadas como indicadores da integridade funcional das vias visuais e da retina, pelo que estas respostas podem estar presentes em situações de ausência de resposta electroretinográfica. Nos casos apresentados, a resposta electroretinográfica obtida a partir daqueles cães cujos donos apresentaram queixas de perda progressiva e súbita de visão, confirmada pelos achados do exame oftálmico (com redução ou ausência de RPL, resposta de ameaça, reflexo consensual e de Dazzle), localizou a origem das alterações da visão na retina.

Estes animais apresentaram curvas fotópicas e escotópicas de baixa amplitude ou *flats*, compatíveis com uma situação de APR em estado avançado ou DSAR, respectivamente.

Mais se conclui com este estudo que é possível obter um registo electroretinográfico interpretável e reproduzível de OU em simultâneo com fotoestimuladores do tipo difusor óptico e eléctrodos conjuntivais.

Em todos os ERGf normais, obtidos em condições escotópicas, foi registada uma onda *a*. Em condições experimentais, quando é possível realizar uma pré-adaptação ao escuro eficiente, não seria expectável obter tal registo. Na sala onde foram realizados os ERGf dificilmente se criam condições de escuridão total e a adaptação ao escuro dos bastonetes não é eficaz. Para a realização do protocolo curto este factor é irrelevante, na medida em que não se pretende obter uma resposta discriminada da função dos bastonetes e dos cones e a resposta mista de cones-bastonetes obtida com a onda *a* oferece a informação clínica necessária. Contudo, aquando a elaboração do protocolo longo, esta é uma limitação a ter em conta e deve ser contornada.

Em dois dos cães com cataratas estudados verificou-se uma menor amplitude de ambas as ondas, comparativamente ao olho contralateral normal ou com os restantes electroretinogramas. Quando a resposta electroretinográfica é reduzida, é necessário ter em consideração não só a possibilidade de retinopatia mas também a presença de alterações na câmara anterior, nomeadamente o grau de opacidade do cristalino ou a presença de uveíte, que impedem a iluminação normal da retina e comprometem a captação de luz pelos fotorreceptores e conseqüente hiperpolarização e registo de uma resposta.

No pós-operatório, todos os cães submetidos a facoemulsificação recuperaram a visão do(s) olho(s) operados, confirmando-se a informação obtida pelo ERG sobre a funcionalidade da retina.

De futuro, para uma avaliação e interpretação mais correctas dos ERGs realizados no HVR, seria interessante criar uma base de electroretinogramas a partir de animais saudáveis e com uma distribuição por idade e raças.

Dada a grande variedade de raças de cães e patologias oculares apresentadas pelos canídeos que se apresentam à consulta de Oftalmologia no HVR com indicação para realizar o ERG, é praticamente impossível criar uma base de dados para cada raça e faixa etária. Esta situação seria contornada se houvesse consciência, junto dos criadores de cães, da necessidade de realizar este exame aos seus animais progenitores a fim de impedir o cruzamento daqueles que apresentassem alterações compatíveis com retinopatias hereditárias. O maior afluxo de indivíduos de determinada raça ao serviço de oftalmologia para despiste de retinopatias

hereditárias permitiria estabelecer, a partir daqueles saudáveis, uma base de registos normais para cada raça e faixa etária.

Uma segunda hipótese para ultrapassar esta situação seria elaborar um ERG “controlo”, a partir de um cão saudável e antes de registar o ERG “estudo”, sob as mesmas condições ambientais (adaptação à luz e ao escuro, equipamento e protocolo). Esta opção levanta, pela perspectiva da autora, algumas questões de carácter ético, de exequibilidade e viabilidade dos resultados, uma vez que, não se tratando se uma situação experimental, a utilização de um cão para “controlo” não é justificável; o tempo necessário para elaborar os dois registos tornaria o procedimento demasiado longo; seria conveniente que fosse utilizado sempre o mesmo cão “controlo”; a variabilidade fisiológica inter-raça e entre faixas etárias poderá levar a alterações entre os dois resultados, não necessariamente compatíveis com situações patológicas.

A pequena dimensão da amostra não permite à autora correlacionar e extrapolar sobre a relação entre os achados obtidos na electroretinografia e a função da retina com a presença vs. ausência de RPL, reflexo de encadeamento e de Dazzle.

Uma vez que estes cães não foram sujeitos a nova electroretinografia após realização de facoemulsificação, foi impossível avaliar a resposta da retina após remoção da catarata e o impacto que esta barreira opaca tem sobre a absorção de luz pela retina e respectiva resposta electrorretinográfica.

De futuro seria interessante estudar um maior número de ERGs obtidos antes e após cirurgia de cataratas em diferentes estádios de evolução, procurando avaliar a duração do tempo de latência com a amplitude das diferentes ondas, bem como verificar se existe uma relação entre a amplitude de cada onda e o grau de condensação da catarata.

VI. BIBLIOGRAFIA

- Abitbola, M., Andréb, C., Queneyc, G. & Chaudieud, G. (2010). Les tests génétiques chez le chien. *Revue Francophone de Laboratoires*, 420, 69-82.
- Aguirre, G. K., Komáromy, A. M., Cideciyan, A. V., Brainard, D. H., Aleman, T. S., Roman, A. J., et al. (2007). Canine and human visual cortex intact and responsive despite early retinal blindness from RPE65 mutation. *PLoS Med* (6), 4, 230.
- André, C., Chaudieu, G., Thomas, A., Jongh, O., Jegou, J. P., Chahory, S., et al. (2008). Hereditary retinopathies in the dog: Genetic fundamentals and genetic tests. *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'animal de compagnie* (43), 75-84.
- Antonetti, D.A., Barber, A.J., Bronson, S.K., Freeman, W.M., Gardner, T.W., Jefferson, L.S., Kester, M., Kimball, S.R., Krady, J.K., LaNoue, K.F., Norbury, C.C., Quinn, P.G., Sandirasegarane, L. & Simpson, I.A. (2006). Perspectives in diabetes. Diabetic retinopathy. Seeing beyond glucose-induced microvascular disease. *Diabetes*, 55, 2401-2411.
- Barishak, R. Y. & Ofri, R. (2007). Embryogenetics: gene control of the embryogenesis of the eye. *Veterinary Ophthalmology* (10), 3, 133 - 136.
- Barnett, K. C. (1965). Canine Retinopathies - I. History and Review of the Literature. *Journal of Small Animal Practice*, 6, 41 - 55.
- Barnett, K. C., Curtis, R. & Millichamp, N. J. (1983). The differential diagnosis of retinal degeneration in the dog and cat. *Journal of Small Animal Practice*, 663-673.
- Bedford, P. G. C. (2009). Vision in Vertebrates. 34th World Small Animal Veterinary Association Congress. São Paulo, Brazil, 21-24 Julho. Acedido em Março 2010. Disponível em: <http://www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx?CID=WSAVA2009&Category=8079&O=Generic>
- Beam, S., Correa, M. T. & Davidson, M. G. (1999). A retrospective – cohort study on the development of cataracts in dogs with diabetes mellitus: 200 cases. *Veterinary Ophthalmology*, 2, 169 – 172.
- Beránek, J. & Vít, P. (2007). Current examination methods of the canine eye. *EJCAP* (17), 3, 221 - 227.
- Boevé, M. H., Van der Linde-Sipman, J. & Stades, F. (1988). Early Morphogenesis of the Canine Lens, Hyaloid system, and Vitreous Body. *The Anatomical Record* (220), 435-441.
- Brigell, M., Chair, Bach, M., Barber, C., Moskowitz, A. & Robson, J. (2003) Guidelines for calibration of stimulus and recording parameters used in clinical electrophysiology of vision, ISCEV. *Documenta Ophthalmologica*. 107: 185–193.
- Brigell, M., Dong, C., Rosolen, S. & Tzekov, R. (2005). An overview of drug development with special emphasis on the role of visual electrophysiological testing. *Documenta Ophthalmologica*. 110, 3-13.
- Chaudieu, G. & Molon-Noblot, S. (2004). Affections de la rétine. *EMC-Vétérinaire* (1), 47-73.

- Crispin, S., Gould, D., Ellis, S., Mould, J., Renwick, P. & Sampson, J. (2008). Hereditary eye disease in the BVA/KC/ISDS Eye Scheme: an update. *Companion Animal Practice* (30), 2-14.
- Cunningham, J. G. (Ed.). (1999). *Tratado de Fisiologia Veterinária*. (2ª edição). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Durieux, P., Rigaudière, F., LeGargasson, J.-F. & Rosolen, S. G. (2008). ERG findings in three hypothyroid adult dogs with and without levothyroxine treatment. *Veterinary Ophthalmology* (11), 6, 406–411.
- Ekesten, B. (2009) *The Science and the Practice of Clinical Electrorretinography*. Dusseldorf, Berlim. 5 – 6 Dec.
- Eckert, R., Randall, D., Burggren, W. & French, K. (1998). *Animal Physiology Mechanisms and Adaptations*. (4th ed). New York: W. H. Freeman and Co.
- Fercher, A. F., Hitzenberger, C. K. & Lasser, T. (2003). Optical coherence tomography – principles and applications. *Reports on Progress in Physics*, 66, 239 – 303.
- Gardner, T.W., Antonetti, D.A., Barber, A.J., LaNoue, K.F., Levison, S.W. & The Penn State Reina Research Group. (2002). Diabetic retinopathy: more than meets the eye. *Survey of Ophthalmology*, 47, Suppl 2, S253-S262.
- Gelatt, K. N. (Ed.). (2007). *Veterinary Ophthalmology*. (4th ed.). Blackwell Publishing Ltd.
- Genetics Committee of the American College of Veterinary Ophthalmologists. (2007). *Ocular disorders presumed to be inherited in pure breed dogs* (5th ed). USA: ACVO
- Gekeler, F., Gmeiner, H., Völker, M., Sachs, H., Messias, A., Eule, C., Bartz – Schmidt, K. U., Zrenner, E., Shinoda, K. (2007). Assessment of the posterior segment of the cat eye by optical coherence tomography (OCT). *Veterinary Ophthalmology* (10), 3, 173-178.
- Gilbert, S. F. (Ed.). (2000) *Developmental Biology*. (6th ed.). Sunderland: Sinauer Associates. Acedido em Junho 2010. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=dbio&part=A2920&rendertype=figure&id=A2922>
- Gould, L. D., Jones, S. M. & Sargan, D. R. (2002). Canine inherited retinal degenerations: update on molecular genetic research and its clinical application. *Journal of Small Animal Practice* (43), 426 - 432.
- Grozdanic, S. D., Matic, M., Sakaguchi, D. S., & Kardon, R. H. (2007). Evaluation of Retinal Status Using Pupil Light Reflex Activity in Healthy and Diseased Canine Eyes. *Investigative Ophthalmology & Visual Science (vol 48 (11))*, 5178 - 5182.
- Güller, A., Ecker, J., Lall, G. S., Haq, S., Altimus, C. M., Liao, H. & al. (2008). Melanopsin cells are the principal conduits for rod - cone input to non - image- forming vision. *Nature*, 102 - 106.
- Hebel, R. (1976). Distribution of Retinal Ganglion Cells in Five Mammalian Species (Pig, Sheep, Ox, Horse, Dog). *Anatomy and Embryology*, 45-51.

- Hisatomi, O., Yamamoto, S., Kobayashi, Y., Honkawa, H. & Tokunaga, Y. T. (2002). Evolution of Visual Pigments and Related Molecules. *Journal of Photoscience*, 41-43.
- Hodgman, S. F., Parry, H. B., Rasbridge, W. J. & Steel, J. D. (1949). Progressive Retinal Atrophy in dogs. 1. The disease in Irish Setter (Red). *Veterinary Record*, 185.
- Hollander, H., Makarov, F., Dreher, Z., Driel, D. v., Chan-Ling, T. L. & Stone, J. (1991). Structure of the macroglia of the retina: sharing and division of labour between astrocytes and Müller cells. *The Journal of Comparative Neurology* (313), 587 - 603.
- Honsho, C., Oriá, A. P., Júnior, L. P., Neto, F. D. & Laus, J. L. (2004). The organization of flash electroretinography unit in Veterinary Medicine. *Ciência Rural* (34), 4,1097 - 1104.
- Hood, D. C.; Bach, M., Brigell, M., Keating, D., Kondo, M., Lyons, J. S. & Palmowski-Wolfe, A. M. (2007). ISCEV Guidelines for clinical multifocal electroretinography. Acedido em Setembro 2010. Disponível em: <http://www.iscev.org/standards/pdfs/mfERGSguidelines9-07r3.pdf>
- Jacobs, G. H., Deegan, J. F., Crognale, M. A., & Fenwick, J. A. (1993). Photopigments of dogs and foxes and their implications for canid vision. *Visual Neuroscience*,173-180.
- Jorge, M. L. (2009). Células Mato na Retina: Caracterização morfológica e funcional de uma nova população de células perivasculares autofluorescentes em situação fisiológica e de retinopatia. Tese de Doutoramento em Ciências Veterinárias. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária.
- Jeong, M. B., Narfström, K., Park, S. A., Chae, J. M. & Seo, K. M. (2009). Comparison of the effects of three different combinations of general anesthetics on the electroretinogram of dogs. *Documenta Ophthalmologica*. 119, 79–88.
- Kolb, H., Fernandez, E. & Nelson, R. (2003). John Moran Eye Center University of Utah: Webvision The Organization of the Retina and Visual System. Acedido em Junho 2010. Disponível em <http://webvision.med.utah.edu/sretina.html>
- Komáromy, A. M., Smith, P. J. & Brooks, D. E. (1998). Electroretinography in Dogs and Cats. Part II. Technique, Interpretation and Indications. *The Compendium* (3), 355 - 364.
- Komáromy, A., Brooks, D. E., Dawson, W. W., Källberg, M. E., Ollivier, F. J. & Ofri, R. (2002). Technical issues in electrodiagnostic recording. *Veterinary Ophthalmology* (5), 85 - 91.
- Kommonen, B., Hyvätti, E., & Dawson, W. (2007). Propofol modulates inner retina function in Beagles. *Veterinary Ophthalmology* (10), 2, 76 - 80.
- Kühne, W. (1878). On the Photochemistry of the Retina and on Visual Purple. London: MacMillan and Co. Acedido em Março 2010. Disponível em <http://ia700304.us.archive.org/34/items/cu31924024829750/cu31924024829750.pdf>
- Laboratório Lve Sudamerica, S.A. Retinopatias Hereditárias: Displasia de los fotoreceptores (1ª parte); informe 52.

- Lee, J., Kim, K., Jang, H., Lee, B., Kim, J. Y., Jeong, S. (2009). The normal electroretinogram in adult healthy Shih Tzu dogs using the HM sERG. *Journal of Veterinary Science* (10), 3, 233-238
- Lewis, G. P., Chapin, E. A., Luna, G., Linberg, K. A. & Fisher, S. K. (2010). The fate of Müller's glia following experimental retinal detachment: nuclear migration, cell division, and subretinal glial scar formation. *Molecular Vision* (16), 1361-1372.
- Liapis, I. C. (2004). Electroretinography in Small Animal Practice. *29th WSAVA*, Rhodes, Grécia, 6 – 9 Outubro. Acedido em Setembro 2010. Disponível em: www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx?&CID=WSAVA2004&PID=pr08723&O=Generic
- Maehara, S., Itoh, N., Wakaiki, S., Tsuzuki, K., Seno, T., Kushiro, T., et al. (2005). Electroretinography Using Contact Lens Electrode with a Built-In Light Source in Dogs. *J. Vet. Med. Sci.* (67), 5, 509 - 514.
- Maehara, S., Itoh, N., Wakaiki, S., Yamasaki, A., Tsuzuki, K. & Izumisawa, Y. (2007). The effects of cataract stage, lens-induced uveitis and cataract removal on ERG in dogs with cataract. *Veterinary Ophthalmology*. 10, 308–312.
- Marmor, M. F. & Zrenner, E. (1999). Standar for clinical electroretinography update. *Documenta Ophthalmologica* (97), 143 - 156.
- Mentzer, A. E., Eifler, D. M., Montiani-Ferreira, F., Tuntivanich, N., Forcier, J. Q. & Peterson-Jones, S. M. (2005). Influence of recording electrode type and reference electrode position on the canine electroretinogram. *Documenta Ophthalmologica* (111), 95 - 106.
- Miller, P. E. & Murphy, C. J. (1995). Vision in Dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* (207), 12, 1623-1634.
- Miller, P. E. (2001). Vision in Animals - What do Dogs and Cats see? *The 25th Annual Waltham/ OSU Symposium Small Animal Ophthalmology*. 27-28 Outubro. Disponível em: <http://www.vin.com/vindbpub/searchpb/proceedings/pr05000/PR00515.pdf>
- Millichamp, N. J. (2001). Retinal Disease, Degeneration and Diagnosis. *The 25th Annual Waltham/ OSU Symposium, Small Animal Ophthalmology*.
- Montgomery, K. W., Woerdt, A., & Cottrill, N. (2008). Acute blindness inn dogs: Sudden acquired retinal degeneration syndrome versus neurological disease (140 cases, 2000-2006). *Veterinary Ophthalmology* (11),5, 314 - 320.
- Mowat, F. M., Peterson-Jones, M., Williamson, H., Williams, D. L., Luthert, P. J., Ali, R. R., Bainbridge, J. W. (2008). Topographical characterization of cone photoreceptors and the area centralis of the canie retina. *Molecular Vision*,14:2518.
- Murray, M. J. & Borda, R. P. (1984). Physiologic correlates of the ERG hyperventilatory response in dogs. *Acta Ophthalmica Copenhaga* (62), 5, 808 - 818.
- Narfström, K., Ekesten, B., Rosolen, S. G., Spiess, B. M., Percicot, C. L. & Ofri. R. (2002). Guidelines for Clinical Electroretinography in the Dog. *Documentha Ophthalmologica* (105), 83 - 92.

- Narfström, K. (2002). Electroretinography in veterinary medicine - easy or accurate? *Veterinary Ophthalmology* (5), 4, 249 - 251.
- Narfström, K. (2009). Spontaneous Hereditary Retinal Degenerative Diseases in Domesticated Animals. *34th World Small Animal Veterinary Association Congress*. São Paulo, Brazil, 21-24 Julho. Acedido em Agosto 2010 Disponível em: <http://www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx?CID=WSAVA2009&Category=8079&O=Generic>
- Narfström, K., Andersson, B., Andreasson, S. & Gouras, P. (1995). Clinical electroretinography in dog with ganzfeld stimulation: a practical method of examining rod and cone function. *Documenta Ophthalmologica* (90), 179 - 290.
- Narfström, K., Ekestén, B., Rosolen, S. G., Spiess, B. M., Percicot, C. L. & Ofri, R. (2002). Guidelines for Clinical Electroretinography in the Dog. *Documenta Ophthalmologica* (105), 83 - 92.
- Neitz, J., Geist, T. & Jacobs, G. H. (1989). Color Vision in the dog. *Visual Neuroscience* , 119-125.
- Nelson, R. (2001). John Moran Eye Center University of Utah: Webvision The Responses of Ganglion Cells. Acedido em Janeiro 2011. Disponível em <http://webvision.med.utah.edu/GCPHYS1.HTM>
- Newman, E.A. (2003). New roles for astrocytes: regulation of synaptic transmission. *Trends in Neurosciences*, 26, 536-542.
- Norman, J. C., Barret, P. M. & Narfström, K. (2008). The effects of Medetomidine Hydrochloride on the Electroretinogram of Normal Dogs. *Veterinary Ophthalmology* (11); 5, 299 - 305.
- Ofri, R. (2002). Clinical electrophysiology in veterinary ophthalmology - the past, the present and future. *Documenta Ophthalmologica* (104), 5 - 16.
- Ofri, R. (2006). Electroretinography. *31st Congress of the World Small Animal Veterinary Association*, 11-14 Dezembro, Praga. Acedido em Junho 2010 Disponível em: <http://www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx?CID=WSAVA2006&O=Generic>
- Ofri, R. (2008). Ocular examination- how to do it? *33rd Congress of the World Small Animal Veterinary Association and 14th FECAVA*, 20-24 Agosto, Dublin. Acedido em Março 2010 Disponível em: <http://www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx?CID=WSAVA2008&O=Generic>
- Ofri, R. (2009). 1º Encontro do Grupo de Interesse Especial da APMVEAC em Oftalmologia: Curso de Electroretinografia em Medicina Veterinária, 10 e 11 Janeiro, FMV-UTL, Lisboa.
- Oriá, A. P., Júnior, L. P., Honsho, C. S., Neto, F. A. & Laus, J. L. (2004). Considerations about Electroretinography in dogs. *Ciência Rural* (34), 1, 323 - 328.
- Panda, S., Nayak, S. K., Campo, B., Walker, J. R., Hogenesch, J. B. & Jegla, T. (2005). Illumination of the Melanopsin Signaling Pathway. *Science* (307), 600 - 604.

- Parry, H. B. (1953a). Degeneration of the dog retina, I: Structure and development of the retina in the normal dog. *British Journal of Ophthalmology*, 385-404.
- Parry, H. B. (1953b). Degenerations of the dog retina II. Generalised Progressive Atrophy of Hereditary origin. *British Journal of Ophthalmology*, 385.
- Parry, H. B., Tansley, K. & Thomson, L. C. (1953). The electroretinogram of the dog. *Journal of Physiology* (120), 28 - 40.
- Peichl, L. (1992). Topography of ganglion cells in the dog and wolf retina. *Journal Comparative Neurology* (324), 4, 603-20.
- Peiffer, R. L.; Jr. & Petersen-Jones, S. M., (2009). *Small Animal Ophthalmology* (4th ed.). Elsevier. Philadelphia
- Peña, T. (2009). 1º Encontro do Grupo de Interesse Especial em Oftalmologia da APMVEAC: Curso de Electroretinografia em Medicina Veterinária, 10 e 11 Janeiro, FMV-UTL, Lisboa.
- Peterson-Jones, S. (2005). Advances in the molecular understanding of canine retinal disease. *Journal of Small Animal Practice* (45) , 371 - 380.
- Pickett, J. P. (2009). Diseases of the Canine Posterior Segment. *American Board of Veterinary Practicioners Symposium*, 16-19 Abril, Texas.
- Plummer, C., Specht, A., & Gellat, K. (2007). Ocular Manifestations of Endocrine Disease. *Compendium*, Dez. 733 – 742.
- Pretterer, G., Bubna-Littitz, H., Windischbauer, G., Gabler, C. & Griebel, U. (2004). Brightness discrimination in the dog. *Journal of Vision* (4), 241-249.
- Riis, R. C. (2002). *Small Animal Ophthalmology Secrets*. Philadelphia: Hanley & Belfus, Inc.
- Ropstad, E. O. & Narfström, K. (2007). The obvious and the most hidden components of the electroretinogram. *EJCAP* (17), 3.
- Rosolen, S. G., Chalier, C., Rigaudière, F. & Lachapelle, P. (2005). The erg of the Beagle dog: evidence associating a post b-wave negativity with the Tapetum Lucidum. . *Documenta Ophthalmologica*, 110, 145 - 153.
- Rosolen, S., Rigaudière, F., LeGargasson, J., Chalier, C., Rufiange, M., Racine, J., Joly, S. & Lachapelle, P. (2004). Comparing the photopic ERG i-wave in different species. *Veterinary Ophthalmology* (7), 3, 189 - 192.
- Rosolen, S. G., Kolomiets, B., Varela, O. & Picaud, S. (2008). Retinal electrophysiology for toxicology studies: Applications and limits of ERG in animals and ex vivo recordings. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 60, 17 – 32.

- Safatle, A. M., Lisak, R., Otsuki, D. A. & Gomes, D. (2010). Determinação dos valores normais do eletroretinograma de campo total em cães da Poodle portadores de catarata de acordo com a faixa etária. *Ciência Rural* (40), 3, 587 - 593.
- Sandalon, S. & Ofri, R. (2009). The effect of topical anesthesia on the reat electroretinogram. *Documentha Ophthalmologica* (118),101 - 108.
- Seruca, C., Ródenas, S., Leiva, M., Peña, T. & Añor, S. (2010) Acute postretinal blindness: ophthalmic, neurologic, and magnetic resonance image findings in dogs and cats (seven cases). *Veterinary Ophthalmology* (13), 5, 307-314.
- Schimidt-Nielsen, K. (1998). *Animal Physiology Adaptation and Environment* (5th ed.). Cambridge: Cambridge University Press.
- Silbernagl, S. & Lang, F. (2008). *Fisiopatologia Texto e Atlas*. São Paulo: Artmed.
- Slatter, D. (2008). *Fundamentals of Veterinary Ophthalmology* (4th ed). Philadelphia: Saunders Elsevier.
- Strain, G. M., Jackson, R. M., Tedford, B. L. (1999). Visual evoked potentials in the clinically normal dog. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. (4), 4, 222-5.
- Taylor, H.R. (1999) Epidemiology of age-related cataract. *Eye*.13; 445–448.
- Tokunaga F., Hisatomi O., Satoh T., Taniguchi, Y., Matsuda, S., Imanishi, Y., Honkawa, H., Takahashi, Y., Kobayashi, Y., Yoshida, M. & Tsukahara Y. (1999). Evolution of visual pigments and related molecules. *Novartis foundation Symposium*. 224, 44-53.
- Tuntivanich, N., Mentzer, A. L., Eifler, D. M., Montiani-Ferreira, F., Forcier, J. Q., Johnson, C. A. et al. (2005). Assessment of the dark - adaptation time requires for recovery of electroretinographic responses in dogs after fundus photography and indirect ophthalmoscopy. *AJR* (66), 1798 - 1804.
- Wachtmeister, L. (1987). Basic research and clinical aspects of the oscillatory potentials of the electroretinogram. *Documentha Ophthalmologica*. (66),187 - 194.
- Wakaiki, S., Maehara, S., Abe, R., Tsuzuki, K., Igarashi, O., Saito, A. et al. (2007). Indocyanine Green Angiography for Examination of the Normal Ocular Fundus in dogs. *J. Vet. Med. Sci.*(69), 5, 465 - 470.
- Wilcock, B. P. (2007). Eye, Eyelids, Conjunctiva, and Orbit. In M. McGavin & J. F. Zachery (Eds.), *Pathologic basis of Veterinary Disease*. (4th ed), pp. 1349-1412, Mosby Elsevier.
- Williams, D. L. (2006). Oxidation, antioxidants and cataract formation: a literature review. *Veterinary Ophthalmology* (9), 5, 292 - 298.
- Willis, C. K., Quinn, R. P., McDonnell, W. M., Gati, J., Parent, J. & Nicolle, D. (2001). Functional MRi as a tool to access vision on dogs: the optimal anesthetic. *Veterinary Ophthalmology* (4), 4, 243-253.

- Wolf, G. (2004). The visual cycle of the cone photoreceptors of the retina. *Nutrition Reviews* (62), 283 - 286.
- Yanase, J., Ogawa, H. & Ohtsuka, H. (1995). Rod and Cone Components in the Dog Electroretinogram during and after Dark Adaptation. *J. Vet. Med. Sci.* 57, 877 - 881.
- Young, R., W. (1976). Visual cells and the concept of renewal. *Investigative Ophthalmology* (15), 9,700 - 725.
- Zeiss, C. J., Acland, G. M. & Aguirre, G. D. (1999). Retinal Pathology of Canine X-linked Progressive Retinal Atrophy, the Locus Homologue of RP3. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 40, 3292-3304.

VII. ANEXOS

1. Conceitos e definições básicas sobre passagem de corrente eléctrica.

A corrente eléctrica é definida como uma carga que se move por unidade de tempo. É medida, com interesse para o estudo de sinais bioeléctricos, em miliampères (mA, 10^{-3} A). (Komáromy et al., 2002)

A oposição de matéria (ex. tecidos moles e estruturas ósseas) à passagem da corrente é definida como Resistência^{****}. De acordo com a Lei de *Ohm* (Corrente = Voltagem/ Resistência), a corrente é directamente proporcional à voltagem e indirectamente proporcional à resistência. (Komáromy et al., 2002)

Se a corrente for dirigida numa única direcção, de forma constante ou por impulsos, é denominada corrente directa (CD). (Komáromy et al., 2002)

Na maioria dos sistemas biológicos a corrente vai alternando a sua direcção com o tempo (corrente alterna ou CA). A frequência da CA é descrita como o número de vezes que a corrente muda de sentido num segundo e é registada em *Hertz* (Hz) sendo que 1 Hz = 1 ciclo por s. (Komáromy et al., 2002)

O registo das alterações da voltagem da CA resulta num traçado passível de ser interpretado qualitativa e quantitativamente (ex. ERG e VEPs). (Adaptado de Komáromy et al., 2002)

A Capacitância é descrita como a quantidade de carga que pode ser armazenada por um capacitador que consiste, por sua vez, em dois condutores separados por material isolante (Komáromy et al., 2002)

**** A voltagem é registada, com interesse para o estudo dos sinais bioeléctricos, em microvolts (μ V, 10^{-6} V).

A Impedância (medida em Ohms, Ω) é a oposição que o material oferece ao movimento de cargas. No caso da CA é formada pela resistência, pela capacitância e impedância. (Komáromy et al., 2002)

De acordo com a lei de Ohm, a voltagem é produzida quando uma corrente eléctrica, gerada por uma diferença de potenciais, cruza um ponto de resistência. Neste caso concreto, as células da retina geram uma corrente eléctrica que é registada sob a forma de um electroretinograma. A resistência apresentada à passagem da corrente é formada pela retina, pela córnea e pelas câmaras preenchidas por humor vítreo. Quando parte da retina é iluminada, as células da retina são simultaneamente activadas. A corrente eléctrica despoletada pela estimulação das células da retina com luz atravessa as estruturas extra retinianas (vítreo e córnea) que lhe atribuem resistência, gerando assim a voltagem registada no ERG. (Honsho, Oriá, Júnior, Neto & Laus, 2004)

A Luminância é a medida fotométrica com maior interesse para a electroretinografia clínica. É uma medida de luz por unidade de área, ou seja, mede a quantidade de luz emitida a partir de uma fonte ou superfície reflectora sobre uma determinada superfície e expressa-se em candela por metro quadrado (cd/m^2 ; medidas do Sistema Internacional). Contudo, é uma medida independente da área de superfície iluminada. (Brigell et al., 2003)

Tabela 11 - Genes, mutações e testes disponíveis para as retinopatias hereditárias caninas. (Adaptado de Abitola, Andréb, Queneyc e Chaudieud, 2010)

Genes, mutações e testes disponíveis para as retinopatias hereditárias caninas.				
Patologia	Raças atingidas	Genes	Mutações	Testes genéticos
Displasia dos bastonetes e dos cones (rcd 1-PRA rcd1a-PRA)	Setter Irlandês Sloughi	PDE6B cGMP fosfodiesterase -subunidade	Mutação pontual W807X Inserção de 8 pb (exão 21)	Antagene Genindexe Idexx
APR do tipo A (pd)	Schnauzer anão	<i>PDC Phosducine</i>	Mutação pontual R82G	Genindexe
Cegueira noturna congénita estacionária (csnb)	Briard	<i>RPE 65</i> <i>Retinal pigment epithelium protein 65</i>	delecção de 4 pb (exão 5)	Antagene Genindexe Idexx
Displasia dos bastonetes e dos cones (rcd 3-PRA)	Cardigan Welsh Corgi	<i>PDE6A cGMP phosphodiesterase - subunit</i>	Delecção de um pb (exão 15)	Genindexe
APR associado ao X (XL-PRA)	Husky da Sibéria e Samoyedo	<i>RPGR Retinitis pigmentosa GTPase regulator protein</i>	Delecção de 5 pb (exão 15)	Antagene Genindexe
Displasia dos cones (cd)	Malamute do Alaska Braque Alemão	<i>CNGB3 Cyclic nucleotide-gated channel -subunit</i>	Delecção completa do gene Mutação pontual D262N (exão 6)	Antagene Genindexe
APR transmitida pelo modo autosómico dominante	Mastiff Bull Mastiff	<i>RHO Rhodopsine</i>	Mutação pontual T4R	Antagene Genindexe
Distrofia dos bastonetes e dos cones (cord1)	Teckel de pêlo comprido Teckel de pêlo curto	<i>RPGRIP 1</i> <i>RPGR interacting protein 1</i>	Insertion de 44 pb (exão 2)	Animal Health Trust, Grã-Bretanha
Retinopatia multifocal canina (cmr)	Dogue de Bordeaux Cão de montanha dos Pirinéus Coton de Tulear	<i>VMD2 Vitelliform macular dystrophy 2</i> Também chamada <i>BEST1 Bestrophin 1</i>	<i>Cmr 1</i> (Mutação pontual C73T) <i>Cmr 2</i> (m Mutação pontual G482A)	Antagene
Displasia/hipoplasia da coróide	Pastor australiano Pastor das Shetland Border Collie Colley de pêlo comprido Colley de pêlo curto Lancashire Heeler Retriever da Nova Escócia Whippet de pêlo comprido	<i>NHEJ1</i> terminação não homóloga <i>joining factor 1</i> <i>Rôle possible de IHH Indian hedgehog</i>	Delecção de 7,8 kb (inirão 4) em <i>NHEJ1</i>	Antagene Idexx
Distrofia dos bastonetes e dos cones (crd)	Teckel de pêlo duro	<i>NPHP4</i> <i>Nephronophthisis 4</i>	Delecção de 180 pb - (exão/inirão 5)	

Continuação da Tabela 10 - Genes, mutações e testes disponíveis para as retinopatias hereditárias caninas.
(Adaptado de Abitbola, Andréb, Queneyc e Chaudieud, 2010)

Genes, mutações e testes disponíveis para as retinopatias hereditárias caninas.				
Degenerescência progressiva dos bastonetes e dos cones (prcd)	Bouvier Australiano Bouvier d' Entelbuch Caniches anão e toy; Cão chinês de franja Pastor Lapão Cão de Água Português Cães Finlandeses e Suecos da Lapónia Cocker americano e inglês Esquimó d'América Kuvasz Retriever da Baía de Chesapeake Retriever da Nova Escócia Retriever do Labrador Silky Terrier	<i>PRCD</i> <i>Progressive rod cone degeneration</i>	Mutação pontual C2Y (exão 1)	Antagene
APR generalizada	Schapendoes	<i>CCDC66</i> <i>Coiled-coil domain containing 66</i>	Inserção de um pb (exão 6)	
As doenças estão listadas por ordem cronológica do ano de publicação da mutação causal. Referem-se todos os laboratórios franceses que comercializam o teste. Se o teste não estiver disponível em França dá-se um exemplo de laboratório europeu que o comercializa. pb : par de bases, kb : kilobases.			Endereços WEB de laboratórios que fornecem os testes: Antagene: www.antagene.com Genindex: www.genindexe.com Idexx: www.idexx.fr AHT: www.aht.org.uk/genetics_tests.html#canine	

Tabela 12 - Classificação das APR (adaptado de Slatter, 2008; Gellat, 2007 e de Gould, Peterson-Jones & Sargan, 2002)

Forma	Raça	Doença	Gene	Dx por ERG e alterações anatómicas	Dx Oftalmológico
Precoce Autossômica Recessiva	Setter Irlandês	Displasia bastonetes - cones tipo 1	<i>rcd1</i>	6 sem: <cones; - bastonetes	16 semanas
	Collie (pelagem lisa e cerdosa)	Displasia bastonetes - cones tipo 2	<i>rcd2</i>	6 sem: <cones; - bastonetes	16 semanas
	Elkhound Norueguês	Displasia dos bastonetes	<i>rd</i>	6 sem: N/<cones; - bastonetes	1,0 a 1,5 anos
	Elkhound Norueguês	Degenerescência precoce dos bastonetes	<i>erd</i>	5 sem: domina <i>onda a</i> ; <cones; < bastonetes	9 meses a 1 anos
	Schnauzer Miniatura	Degenerescência dos Fotorreceptores	<i>pd</i>	-	-
	Malamute do Alaska	Degenerescência dos cones		6 sem: - cones ; - bastonetes	Sem alterações
	Poodle Miniatura e Toy	Degenerescência progressiva dos bastonetes e cones	<i>prcd</i>	9 meses: < cones; <<bastonetes	3 a 5 anos
	Cocker Spaniel Inglês	Degenerescência progressiva dos bastonetes e cones	<i>prcd</i>	2 a 3 anos: <cones; <<bastonetes	3 a 8 anos
Tardia Autossômica Recessiva	Akita	Atrofia Progressiva da retina		15 – 2 anos: <cones; <<bastonetes	1 - 3 anos
	Spaniel do Tibete	Atrofia Progressiva da retina		1,5 anos: <cones; <<bastonetes	3 a 5 anos
	Terrier do Tibete	Atrofia Progressiva da retina		10 meses: <cones; <<bastonetes	1,0 a 1,5 anos
	Cocker Spaniel Americano	Degenerescência progressiva dos bastonetes e cones	<i>prcd</i>	9 mês: <cones; <<bastonetes	2,5 a 3,0 anos
	Retriever do Labrador	Degenerescência progressiva dos bastonetes e cones	<i>prcd</i>	1,5 anos: <cones; <<bastonetes	3 a 6 anos
	Cão de Água Português	Degenerescência progressiva dos bastonetes e cones	<i>prcd</i>	1,5 anos; <cones <<bastonetes	3 a 6 anos
Liagada ao Cromossoma X	Eskimo Americano	Atrofia progressiva dos bastonetes - cones	<i>prcd</i>	-	-
	Husky Siberiano e Samoyedo	Atrofia Prgressiva da Retina ligada ao cromossoma X	<i>XLP RA</i>	1 ano; <cones; <<bastonetes	2 anos

(-) ausente;

(«) amplitude da curva electrorretinográfica muito reduzida;

(<) amplitude da curva electrorretinográfica reduzida;

Tabela 13 - Principais Características das Doenças Hereditárias da Retina (adaptado de Gould, Petersen-Jones e Sargan, 2002)

PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS DAS DOENÇAS HEREDITÁRIAS DA RETINA					
DOENÇA	RAÇAS AFECTADAS	SINTOMATOLOGIA	ALTERAÇÕES OFTALMOSCÓPICAS	FISIOPATOLOGIA	GENÉTICA
APR (diversos subtipos)	Descrita em mais de 100 raças de cães, sendo as mais comuns: Poodle miniatura e toy, Cocker Spaniel Americano e Inglês, Retriever do Labrador	Cegueira noturna que progride para cegueira total. A idade à qual se apresentam os primeiros é variável com a raça.	Hiperrreflectiva tapetal bilateral simétrica e atenuação dos vasos superficiais da retina. Cataratas secundárias em algumas formas de APR.	Os bastonetes são as primeiras células a sofrer degenerescência, às quais se seguem os cones e por fim a degenerescência de todas as células da retina.	Mutações genéticas foram indentificadas em algumas raças: Setter Irlandês (<i>rcd 1</i>); Cardigan Welsh Corgi (<i>rcd 3</i>), Sloughi (APR), English Mastiff e Bull Mastiff (APR autossómica dominantes). Foram identificados marcadores genéticos nas raças Poodle (miniatura e toy), Cocker Spaniel Americano e Inglês, Retriever do Labrador (todos no gene <i>prcd</i>) e no Schnauzer Miniatura (APR tipo A)
Cegueira noturna congénita estacionária, distrofia hereditária da retina ou Amaurose congénita de Leber	Briard	Cegueira noturna de início súbito, não progressiva ou de progressão muito lenta. Visão diurna geralmente inalterada.	Pupilas relativamente dilatadas e resposta pupilar à luz reduzida podem ser os únicos achados clínicos. Em alguns casos verifica-se atenuação dos vasos superficiais de retina.	O principal alvo de degenerescência é o EPR.	Um defeito no gene RPE 65 é responsável pela doença;
Distrofia do Epitélio Pigmentar da Retina	Briard, Springer Spaniel Inglês, Cocker Spaniel Inglês	O efeito desta alteração sobre a visão é variável desde alterações mínimas de visão à cegueira total.	São observados múltiplos focos de cor amarela-acastanhada sobre o fundo tapetal. Em alguns casos pode-se observar redução da espessura da retina.	O principal alvo de degenerescência é o EPR. Acumulação de lipofusina nas células do EPR.	Modo de transmissão hereditário da maioria das raças predisposta (Retriever do Labrador (possivelmente dominante), Briard (transmissão autossómica recessiva), Golden Retriever, Springer Spaniel Inglês e Cocker Spaniel Inglês) com influência de factores ambientais, tais como a dieta (ex. Cocker Spaniel: deficiência sistémica em VitE está implicada na fisiopatologia da doença)
Hemeralópia	Malamute do Alaska	Hemeralópia (cegueira diurna) de início súbito. Visão noturna não afectada.	Não se verificam alterações oftálmicas evidentes.	Os cones são as principais células alvo. Degenerescência dos cones com função normal dos bastonetes	Delecção do gene <i>CFA 29</i> , incluindo <i>CNGB3</i> (gene associado ao cones).