

# TRABAJO FIN DE GRADO

GRADO EN MEDICINA

CURSO 2020-2021



## ENFERMEDAD DE LHON: LA CEGUERA SILENTE, INDOLORA Y DESCONOCIDA

*LHON'S DISEASE: THE SILENT, PAINLESS AND UNKNOWING  
BLINDNESS*



**Universidad  
Zaragoza**

Autor:

**MARÍA ANSÓN CADENA**

Directora:

**SONIA EMPERADOR ORTIZ**

Departamento:

**Anatomía e Histología Humanas**



## LISTADO DE ABREVIATURAS

- **LHON:** Leber Hereditary Optic Neuropathy
- **G:** Guanina
- **A:** Adenina
- **T:** Timina
- **ATP:** Adenosina-trifosfato
- **OXPHOS:** fosforilación oxidative
- **TCA:** Ácido tricarboxílico
- **ADNmt:** Ácido desoxirribonucleico mitocondrial
- **ADNn:** Ácido desoxirribonucleico nuclear
- **ARNr:** Ácido ribonucleico ribosómico
- **ARNt:** Ácido ribonucleico transferente
- **Kb:** kilobases
- **NCR:** Noncoding region
- **LSP:** light strand promoter
- **HSP:** heavy strand promoter
- **OL:** origin light
- **OH:** origin heavy
- **NADH:** Nicotinamida Dinucleótido Hidruro
- **Cyt b:** citocromo b
- **PEO:** oftalmoplejía externa progresiva crónica
- **KSS:** síndrome de Kearns- Sayre
- **MDS:** síndromes de depleción mitocondrial
- **ADP:** Adenosina difosfato
- **CoQ:** coenzima Q
- **ROS:** especies reactivas de oxígeno
- **FIV:** fecundación in vitro
- **DOA:** Atrofia Óptica Autosómica Dominante
- **OCT:** Tomografía Óptica Computarizada
- **LCR:** líquido cefalorraquídeo

# ÍNDICE

<b>1. RESUMEN Y ABSTRACT</b> .....	5
<b>2. INTRODUCCIÓN</b>	
2.1. La mitocondria: función y origen .....	6
2.2. Genética mitocondrial .....	8
2.2.1. Características especiales del ADN mitocondrial.....	10
2.3. Enfermedades mitocondriales .....	12
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	14
<b>4. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	15
<b>5. RESULTADOS</b>	
5.1. Breve introducción a la enfermedad de LHON .....	16
5.2. Epidemiología de la enfermedad de LHON .....	16
5.3. Etiología y fisiopatología de la enfermedad de LHON .....	19
5.4. Clínica de la enfermedad de LHON .....	22
5.5. Diagnóstico clínico y genético de la enfermedad de LHON .....	26
5.6. Tratamiento y nuevas terapias de la enfermedad de LHON .....	30
5.7. Asesoramiento genético y opciones reproductivas en la enfermedad de LHON.....	34
<b>6. CONCLUSIONES</b> .....	37
<b>7. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	38

## **1. RESUMEN Y ABSTRACT**

**Resumen:** La Neuropatía Óptica de Leber, también conocida como enfermedad de LHON es una enfermedad mitocondrial que causa ceguera bilateral, indolora y que afecta predominantemente a jóvenes, varones, de manera irreversible en la mayoría de casos. Se presenta con una prevalencia de 1: 27.000 a 1:54.000 en Europa y la frecuencia de portadores se ha llegado a estimar mucho más alta, en 1:8.500. Su penetrancia es baja, por lo que el desarrollo de la enfermedad depende de dos principales factores de riesgo: la edad, entre 20 y 30 años, y el sexo masculino. Etiológicamente el 90-95% de los casos están causados por una de las siguientes tres variantes patogénicas: m.11778G>A (la más frecuente), m.3460G>A y m. 14484T>C. El 5% restante, lo componen otras variantes que en determinados pedigríes se han identificado como patológicas. Dichas mutaciones afectan a la cadena de fosforilación oxidativa, en concreto al complejo I, y más específicamente a las subunidades ND1, ND4 y ND6. Dichas alteraciones conducen a una pérdida de las células ganglionares de la retina, debido al déficit de ATP y el aumento de los radicales libres que conducen a la apoptosis de estas células. Los pacientes experimentan un gran escotoma central, que en la mayoría de los casos comienza en uno de los dos ojos y en el plazo de 6-8 semanas se manifiesta en el otro. La agudeza visual se ve tan comprometida que son reconocidos oficialmente como ciegos. El fondo de ojo, la tomografía óptica computarizada y los estudios genéticos en especial, permiten llegar al diagnóstico. La enfermedad de LHON cuenta con un tratamiento específico y dirigido, aprobado por la UE en 2015, Idebenona. Existen multitud de tratamientos y terapias que actualmente se encuentran en investigación. En cuanto al asesoramiento genético es fundamental saber que la mutación solo se transmite por vía materna, los varones no la transmiten a la descendencia. La mayoría de las mujeres presentan la variante en homoplasmia, por lo que toda su descendencia se verá afectada, pudiendo o no desarrollar la enfermedad. **Conclusiones:** la enfermedad de LHON ocasiona una grave discapacidad en los pacientes que la sufren, por lo que es importante conocerla para diagnosticarla de manera precoz y poder aplicar su correspondiente tratamiento. **Palabras clave:** *LHON, enfermedad mitocondrial, células ganglionares de la retina, indolora, subaguda, atrofia óptica, Idebedone.*

**Abstract:** Leber Hereditary Optic Neuropathy (LHON), also named as LHON's disease, is a mitochondrial disease that causes bilateral, painless blindness. This disease is characterized by mainly affecting young men and being irreversible in the most of cases. The prevalence of LHON is 1:27.000 to 1:54.000 in Europe, although the carriers' frequency has been estimated higher, 1:8.500. The penetrance of this disease is low, and the development of the disease depends on two principal risk factors: age, 20's to 30's and male sex. Regarding the etiology, 90- 95% of cases are caused by one of the following pathogenetic variant: m.11778G>A (the most common),

m.3460G>A y m.14484T>C. The remaining 5% of the cases represent other variants which have been identified as pathogenic at determined pedigrees. These mutations affect to the respiratory chain of oxidative phosphorylation process, mainly to Complex I and in particular to the subunits ND1, ND4 and ND6. These changes lead to a loss of the retinal ganglion cells, which is caused by the ATP's deficiency and the increase of reactive oxygen species, producing the apoptosis of these cells. The patients suffer a big central scotoma, in most of cases it starts in one eye, affecting the other eye after a period of 6-8 weeks. The visual acuity is so endangered that the patients are officially recognized as blind. The main keys to reach the diagnosis are the fundus of the eye, the computerized optical tomography and specially, the genetic studies. LHON's disease has a specific and targeted treatment, which was approved by the European Union in 2015, Idebenone. Other different treatments and therapies are currently being investigated. About the genetic counseling, it is essential to know that the mutation is only transmitted through the mother, men do not transmit the disease to their offspring. Most women present the pathogenetic variant in homoplasmy, consequently all their offspring will be affected. **Conclusions:** LHON's disease is a serious cause of disability in those patients suffering from it, therefore, its knowledge is very important to reach an early diagnosis and treatment. **Key words:** *LHON, mitochondrial disease, retinal ganglion cells, painless, subacute, optic atrophy, Idebenone.*

## **2. INTRODUCCIÓN**

### **2.1. LA MITOCONDRIA: FUNCIÓN Y ORIGEN**

Las mitocondrias son orgánulos subcelulares, protegidos por una doble membrana celular, a los cuales atribuimos como función principal la producción de energía a través del proceso de fosforilación oxidativa (sistema OXPHOS). Esta energía se produce en forma de moléculas de adenosina-trifosfato (ATP), gracias a una serie de vías metabólicas que utilizan el oxígeno como principal sustrato <sup>1</sup>. Su papel en el organismo resulta tan importante, que la mitocondria, es la encargada de producir aproximadamente un 90% del combustible celular en forma de estas moléculas de ATP <sup>2</sup>.

Sin embargo, esta no es la única función que desempeña este complejo orgánulo en nuestras células. Desde hace ya algunos años se conoce la implicación de las mitocondrias en otros procesos funcionales, como por ejemplo, el procesamiento metabólico de diferentes productos, en vías de señalización celular y en la regulación intrínseca de la apoptosis <sup>3</sup>. Dentro de las vías metabólicas en las que participa, se encuentra el ciclo del ácido tricarbóxico (TCA), el ciclo de la urea, la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos, el metabolismo de aminoácidos, la biosíntesis del grupo

hemo, la detoxificación de especies reactivas de oxígeno, la regulación de las concentraciones de calcio en el citosol y la biogénesis de grupos de sulfuro de hierro <sup>4,5</sup>.

Con toda esta información se deduce que las alteraciones que tengan lugar en la mitocondria, tanto a nivel estructural como funcional, van a conducir a que se produzcan alteraciones especialmente graves en el organismo afectado. Son cada vez más, los estudios, que demuestran la disfunción mitocondrial como una parte fundamental en la patogenia de las enfermedades degenerativas, enfermedades genéticas, el cáncer y el envejecimiento <sup>1,3</sup>.

Se han descrito multitud de teorías para explicar el origen de estos especiales orgánulos desde aproximadamente el siglo XIX, momento en el que se empieza a tratar de determinar el origen de las células eucariotas y sus componentes. El origen de la mitocondria ha suscitado a lo largo de los últimos siglos diferentes conflictos entre los investigadores. Puede parecer innecesario, pero, sin embargo, gran parte de las características de la mitocondria derivan de sus orígenes filogenéticos. Gracias al descubrimiento de la microscopía de ultraestructura, a partir de 1962, se pudo demostrar que mitocondrias y cloroplastos poseían multitud de características comunes con las bacterias <sup>6</sup>.

Pero sin duda alguna, la principal defensora de la teoría de la endosimbiosis fue la científica *Lynn Margulis*, anteriormente conocida como *Lynn Sagan*. En 1967 publica en la prestigiosa revista "*Biology*" el artículo que marcó toda su carrera profesional: "*On the origin of mitosing cells*". Junto con el noruego *Goksoyr*, propusieron una relación simbiótica endocelular entre eucariotas anaerobios y procariotas aerobios, estos últimos surgidos a partir del cambio en la composición química de la atmósfera del momento, con el consiguiente aumento en las concentraciones de oxígeno libre. Posteriormente se produjo la pérdida de autonomía por parte del procariota aeróbico para convertirse en la nueva mitocondria de la célula eucariota. Este paso trajo consigo la transferencia de material genético desde el núcleo del simbiote al núcleo del hospedador <sup>7</sup>. Igualmente, Margulis afirmó que el uso del oxígeno por parte de estos organismos provocó la aparición de bacterias aerobias dotadas del ciclo de Krebs <sup>6</sup>.

Si nos trasladamos a la actualidad, la última teoría propuesta para explicar el origen de la mitocondria y el cloroplasto posiblemente sea la explicada en 2014 por *David & Buzz Baum*. Su hipótesis consistía en el aumento de la simbiosis o asociación íntima, entre un huésped del género *Archaeal*, denominado como *ecito*, y una proteobacteria epibiótica, considerada como la mitocondria primitiva. Este microorganismo inicial vivía sobre la superficie de la célula hospedadora, hasta que esta comenzó a emitir protusiones desde su superficie con el objetivo de aumentar el contacto entre ambos microorganismos simbióticos. Es así como se formó la membrana nuclear externa, la membrana plasmática y el citoplasma. A su vez, estos investigadores, consideraron que los espacios entre las vesículas generaron el retículo endoplasmático. Los simbioses permanecieron en un inicio atrapados por este, pero consiguieron atravesar su membrana para localizarse en el citoplasma de la célula huésped <sup>7</sup>.

Por lo tanto, tal y como se ha explicado, todo parece apuntar a que las mitocondrias proceden de ancestros bacterianos, siendo el material genético que estas contienen, un recuerdo de los mismos<sup>4</sup>.

## **2.2. GENÉTICA MITOCONDRIAL**

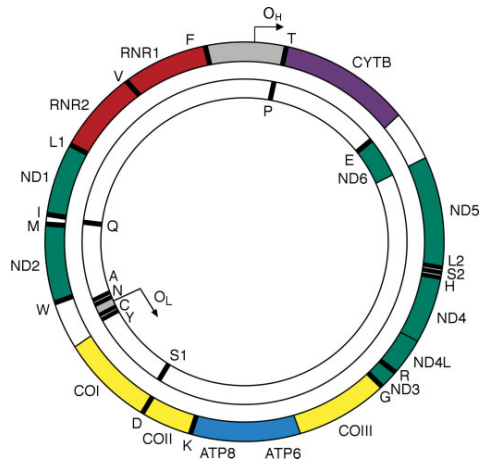
El material genético que posee la mitocondria recibe el nombre de ADN mitocondrial (ADNmt) y a continuación se pretende detallar su estructura, para poder entender cómo las alteraciones que afectan a estos genes y procesos genéticos dan lugar a gran parte de las conocidas como enfermedades mitocondriales<sup>3,8</sup>.

El ADNmt humano comprende aproximadamente 16,5 kb dispuestos en una molécula de ADN circular. Este material genético codifica para un total de 37 genes: 2 ARN ribosómicos (ARNr), 22 ARN de transferencia (ARNt) y 13 de los polipéptidos que conforman el sistema de fosforilación oxidativa<sup>3,8</sup>.

Respecto a su estructura, se caracteriza por ser una molécula bicatenaria, circular, cerrada y sin extremos. Al tratarse de una doble hélice, compuesta por dos cadenas, podemos diferenciarlas en la cadena pesada, denominada por la sigla H (por traducción del inglés como *heavy*) y la cadena ligera, L (por su traducción del inglés como *light*). Entre ellas se distinguen en las bases de los nucleótidos que las forman, existiendo una distribución asimétrica entre Purinas (Adenina y Guanina) y Pirimidinas (Citosina y Timina). La cadena pesada es más rica en Purinas, mientras que la cadena ligera está formada por una proporción mayor de nucleótidos de Pirimidinas<sup>9,10</sup>. En concreto, el elevado número de bases de Guanina presentes en la cadena pesada con respecto a la cadena ligera, permite separarlas por su densidad, al centrifugarlas en un medio alcalino<sup>3,8</sup>. Dentro de su estructura también cabe destacar que el ADNmt carece de intrones, es decir, no existen nucleótidos intermediarios y todos sus genes se sitúan unos a continuación de los otros, con escasas o carentes bases de separación<sup>1</sup>. Si que existe, a modo de excepción, una región reguladora del genoma que no codifica para ningún gen, denominada región control (NCR). Esta región no codificante (NCR) contiene el origen de replicación de la cadena pesada OH, así como los promotores de la transcripción de la misma y de la cadena ligera, denominados LSP y HSP, así como otras secuencias conservadas filogenéticamente<sup>4,8,10</sup>.

El material genético que incluye la mitocondria codifica para un total de 2ARNr, 22ARNt y 13 polipéptidos. De estos, 2 ARNr, 14 ARNt y 12 de los 13 polipéptidos están codificados por la cadena pesada H del ADNmt; 8 ARNt y 1 polipéptido, son codificados por la cadena ligera L del mismo. En total, suman 37 genes que contribuyen al correcto funcionamiento y estructura de la mitocondria (Figura 1)<sup>3,11</sup>.



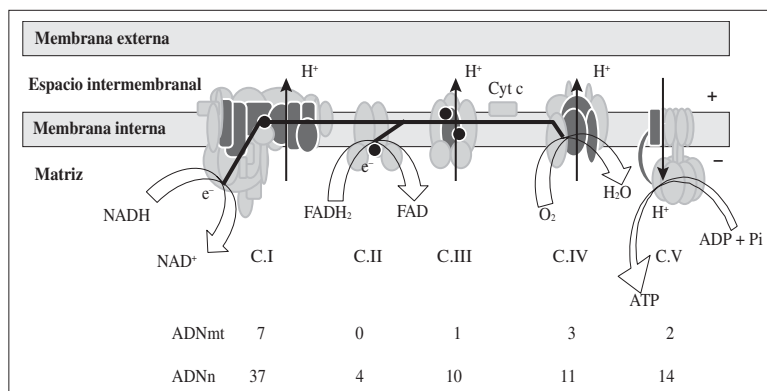


**Figura 1.** Estructura del ADNmt. La hebra interna (color blanco) representa a la cadena ligera y la hebra externa (multicolor) a la cadena pesada. En rojo se localizan los ARNr y representados con líneas negras los genes de ARNt. Los genes representados en verde corresponden con las diferentes subunidades del complejo I del sistema OXPHOS (ND1, ND2, ND3, ND4L, ND5, ND6); En color violeta está representado el complejo III con el citocromo B; en amarillo se representan a las subunidades catalíticas del complejo IV; en azul se observan los componentes del complejo V. En color gris en la cadena H se observa la región NCR que contiene el origen de replicación de la misma cadena <sup>1</sup>.

Los 13 polipéptidos codificados por el ADNmt son constituyentes de cuatro de los cinco complejos multienzimáticos que forman la cadena de fosforilación oxidativa OXPHOS. Siete de los trece forman parte del complejo I o NADH, ubiquinona óxido-reductasa y son el ND 1, 2, 3, 4, 4L, 5 y 6. Uno de ellos, el citocromo b (cyt b) forma parte del complejo III o ubiquinol: citocromo óxido-reductasa. Tres polipéptidos de los sintetizados forman parte del complejo IV y son CO I, II y III, que recibe el nombre de complejo citocromo c oxidasa. Por último, los dos polipéptidos restantes, forman parte del complejo V o también llamado ATP sintetasa <sup>4,12</sup>.

Sin embargo, el sistema OXPHOS, se constituye por un total de 90 polipéptidos. Por lo tanto, salvo estos 13 nombrados anteriormente, el resto están codificados por el material nuclear de la propia célula, el ADNn, incluyendo entre ellos a la totalidad del complejo II <sup>4,12</sup>.

El hecho de que exista una doble codificación para los polipéptidos del sistema OXPHOS pone de manifiesto que las alteraciones en este sistema pueden producirse por mutaciones en el ADN nuclear o en el ADN de la mitocondria. Aproximadamente, se estima que el proteoma mitocondrial cuenta con 1500 proteínas, con diversas funciones, de las que solamente 13 están codificadas por dicho orgánulo (Figura 2) <sup>1,4</sup>.



**Figura 2.** Esquema del sistema de fosforilación oxidativa. En gris claro se representan las subunidades codificadas por el ADNmt, y en gris oscuro las codificadas por el ADNn. C.I: complejo I; C.II: complejo II; C.III: complejo III; C.IV: complejo IV; C.V: complejo V. La tabla inferior indica las subunidades de cada complejo codificadas por cada complejo <sup>4</sup>.

### 2.2.1 CARACTERÍSTICAS ESPECIALES DEL ADN MITOCONDRIAL

El genoma mitocondrial cuenta con unas características que lo hacen especial y único con respecto al material genético nuclear o de otros sistemas. Algunas de ellas ya las hemos nombrado pero se pretende llevar a cabo una síntesis <sup>11</sup>.

En primer lugar, su herencia es exclusivamente materna puesto que las mitocondrias del espermatozoide se eliminan por un proceso activo tras la fecundación del óvulo. Por lo tanto, son las mitocondrias de la madre, que se encuentran en un número muy elevado en los ovocitos las que aportan la información genética mitocondrial al nuevo ser. Igualmente, las hijas son las únicas capaces de transmitir esta información a su descendencia. Las mitocondrias de los varones se pierden en la fecundación. Según los artículos, el proceso por el cuál el ADNmt paterno se pierde es controvertido. Se ha propuesto a una endonucleasa G y la mitofagia como responsables de este proceso de eliminación. Existe un conocido modelo, el modelo de “dilución simple” que explica que debido al bajo número de copias de ADNmt contenido en el citoplasma del espermatozoide, este, es simplemente diluido entre el exceso de copias presente en el oocito. Esto lo convierte en prácticamente indetectable una vez se ha producido la fecundación. Otros estudios más recientes sugieren que el ADN contenido en la mitocondria paterna es seleccionado y eliminado para evitar que lo transmita a su descendencia <sup>2</sup>.

La poliplasmia es otra de las características que convierte al ADNmt en especial. Existen miles de copias de este material genético en cada célula, con excepción de las plaquetas que cuentan con unas pocas. Sin embargo, el oocito tal y como hemos mencionado anteriormente es la célula con mayor número de copias, alcanzando la cifra de 100.000 moléculas de ADNmt. Este número varía en función de las necesidades energéticas de los tejidos entre las 1.000 y 10.000 copias <sup>4,8</sup>.

Cada mitocondria contiene en torno a 2 y 10 copias de este material genético organizado en nucleoides, que se distribuye a lo largo de la matriz mitocondrial y para cuya formación intervienen una proteína principalmente que es el TFAM. Este factor de transcripción contribuye junto con otras moléculas, a la distribución y organización del material genético <sup>2,11</sup>.

Otro aspecto muy curioso es el hecho de que el ADNmt de un mismo individuo no tiene porque ser exactamente idéntico, aunque sí es lo más frecuente. De este fenómeno derivan los términos de homoplasmia y heteroplasmia, que aparece cuando coexisten dos poblaciones de ADNmt diferentes, la normal y la mutada. Al producirse la segregación mitótica para formar los oocitos, los gametos, en caso de que exista heteroplasmia, pueden recibir tres posibles genotipos. Ser homoplásmicos normales y que todas las células posean el mismo material genético mitocondrial. Ser homoplásmicos mutantes, y haber recibido únicamente material genético mutado, estando afectas así todas las mitocondrias o bien, poseer un genotipo heteroplásmico. Estos últimos presentan en proporciones variables material genético sano y material genético mutado <sup>4,13</sup>.

Las variaciones que aparecen el material genético de la mitocondria lo hacen en una frecuencia muy superior a lo que ocurre en el material genético de la célula. Se ha estudiado dicho fenómeno y se han propuesto diferentes hipótesis que expliquen la alta tasa de mutación que sufre el ADNmt. Una de ellas, es el hecho de la elevada exposición a radicales libres de oxígeno que se producen en la cadena de fosforilación oxidativa y la escasa protección del ADN, ya que no cuenta con histonas como el ADNn, estando expuesto a estas agresiones. Además, los mecanismos de reparación de este ADNmt no parecen ser suficientes. Por lo tanto, el ADN de cualquiera de nosotros, está continuamente sufriendo agresiones que originan una heterogeneidad en su secuencia. Algunos expertos señalan a este hecho como responsable en parte de los procesos de envejecimiento <sup>1,4</sup>.

Por último, cabe señalar una característica muy importante de la genética mitocondrial, y es la aportación del valor umbral, que se manifiesta en individuos con heteroplasmia. Un individuo puede satisfacer sus necesidades energéticas siempre y cuando sus mitocondrias, posean niveles adecuados de ADNmt sano. Sin embargo, si el ADNmt mutado supera este valor umbral, las mitocondrias no tienen la capacidad suficiente de producir la energía necesaria y se manifiesta la enfermedad. Este valor umbral varía en función del tejido en el que nos encontremos porque no todos ellos tienen la misma dependencia de ATP. Por ejemplo, el músculo o el sistema nervioso consumen gran parte de la energía de nuestro organismo y poseen una gran cantidad de mitocondrias. Por este motivo son los tejidos que más frecuentemente se ven afectados por las mitocondriopatías. Tampoco todos los tejidos presentan el ADNmt mutado en la misma proporción, siendo la heteroplasmia variable. Igualmente, también los tejidos post-mitóticos como el cerebro o el músculo son los que presentan mayor porcentaje de heteroplasmia. Los tejidos post-mitóticos como la sangre, son una mala opción para elegirlos como muestra en el

diagnóstico de estas enfermedades, ya que a menudo, su porcentaje de ADNmt mutado es muy bajo <sup>1,4,11</sup>.

En la línea germinal femenina, cuando el ADNmt presenta heteroplasma se produce el efecto denominado “cuello de botella” (en inglés *bottleneck*). Con este término se explica que la transmisión del material genético y sus variaciones patológicas a la descendencia ocurre de manera aleatoria e impredecible. Así, se entiende la gran variedad en cuanto al fenotipo, el genotipo, la clínica y la severidad entre los individuos de un mismo pedigré <sup>14</sup>.

### **2.3. LAS ENFERMEDADES MITOCONDRIALES**

Las enfermedades mitocondriales o mitocondriopatías se pueden definir como el conjunto de enfermedades causadas por defectos en el sistema OXPHOS, ya que es la única estructura en el que participa el ADNmt. Sin embargo, también se incluyen las enfermedades causadas por defectos en el sistema de fosforilación oxidativa pero que responden a fallos en genes nucleares. No podemos olvidar que el material genético de la propia célula, el ADN nuclear (ADNn), también codifica para componentes de la cadena de fosforilación oxidativa. Como característica común que une a todas ellas, nos encontramos el déficit en la producción de ATP <sup>4,15</sup>.

La enfermedad mitocondrial, es un término colectivo que engloba a un grupo de patologías muy heterogéneo en cuanto a la genética y la clínica de las mismas. Las variantes patogénicas que las causan pueden interferir directa o indirectamente con el funcionamiento del sistema OXPHOS <sup>14</sup>. Es muy importante conocer que las enfermedades mitocondriales representan la forma más común de los síndromes neurometabólicos congénitos <sup>11</sup>. Así como uno de los grupos más frecuentes de enfermedades genéticas. La prevalencia mínima se estima en 1 de cada 5000 individuos adultos <sup>14</sup>. Sin embargo, otros estudios exponen que la prevalencia de las enfermedades mitocondriales se sitúa en 1 de cada 4300 individuos en el Reino Unido <sup>4,12</sup>.

En cuanto a la etiología de las enfermedades mitocondriales podemos hablar de aquellas que producirán defectos en las proteínas sintetizadas por los 37 genes codificados en el genoma mitocondrial y afectarán a los complejos multienzimáticos I, III, IV y V, entre ellas las que ocasionan la enfermedad de LHON (4, 5). En el otro extremo, el doble control genético de la función mitocondrial, implica que las mutaciones que afectan al genoma nuclear pueden causar alteraciones en las casi 1300 proteínas que codifica el mitoproteoma. En general, se han descrito más de 250 mutaciones causantes de Enfermedades Mitocondriales <sup>5</sup>.

La Enfermedad Mitocondrial producida por mutaciones que afectan al ADNmt puede estar causada por mutaciones puntuales o deleciones a gran escala, que representan las dos causas más comunes de Enfermedad Mitocondrial primaria. En tercer lugar, también puede ocurrir la depleción de ADNmt <sup>16</sup>.

Las mutaciones puntuales se deben en gran medida al elevado índice de mutación del ADN. Muchas de estas variantes son polimorfismos que no ocasionan enfermedad en el individuo y, sin embargo, otras ocasionan fenotipos característicos y dan nombre a determinados síndromes y Enfermedades Mitocondriales. Existen más de 150 mutaciones puntuales descritas y su prevalencia se estima en 1 de cada 200 individuos <sup>4,5</sup>. Por ejemplo, la enfermedad de LHON aparece al producirse una mutación puntual. La mayoría de ellas, presentan herencia materna, un 75% de los casos, pero en un 25% de los mismos pueden aparecer *de novo*. En cuanto al riesgo de recurrencia de estas nuevas variantes, en el caso de la herencia materna, resulta muy difícil poder llevar a cabo una predicción, ya que los ovocitos presentan cargas de la mutación variables y entra en juego el azar. Las pruebas diagnósticas prenatales permiten conocer una estimación del nivel de heteroplasmia del feto, pero también, es casi imposible predecir la carga de mutación en los tejidos maduros del individuo. El riesgo de recurrencia de una mutación puntual que ha ocurrido *de novo* es muy bajo, con la excepción de los mosaicismos germinales <sup>5</sup>.

Las deleciones, que aparecen *de novo* durante el desarrollo embrionario, son otra de las causas comunes de enfermedad mitocondrial. Su frecuencia dentro de la población se estima en 1,5 de cada 100.000 habitantes. Estas deleciones pueden ser únicas o a gran escala y agrupan a tres grandes síndromes: la oftalmoplejía externa progresiva crónica (PEO) (65% de las deleciones), el síndrome de Kearns- Sayre (KSS) (30%), y el síndrome de Pearson (5%). El riesgo de recurrencia de estas mutaciones es 1/24. A su vez, las mujeres afectadas de grandes deleciones presentan menos de un 10% de riesgo de transmisión a su descendencia <sup>5,13</sup>.

Por último, existe un grupo más amplio de mutaciones, donde se encuentran los defectos secundarios del ADNmt que provocan alteraciones en los procesos de mantenimiento, en la transcripción y traducción o en la importación de proteínas. Dentro de este grupo no encontramos mutaciones en sí mismas que alteren la composición del material genético, sino que se trata de defectos cuantitativos y cualitativos del ADNmt que afectan a su estabilidad. Como defectos cuantitativos entendemos las depleciones, es decir, la disminución del número de copias de ADNmt y como cualitativos, aquellos que afectan a la integridad del genoma y como consecuencia de esa falta de estabilidad, se reduce el número de copias. Se ha establecido que se puede hablar de depleción cuando los niveles de ADNmt se encuentran por debajo del 30% con respecto a controles emparejados por edad y sexo. Se han descrito casos donde los valores se situaban por debajo del 5% <sup>5</sup>.

Así, en este tercer escalón, estudiamos los síndromes de depleción mitocondrial (MDS). El genoma mitocondrial, tal y como ya hemos mencionado, se encuentra intacto, por lo que es el ADNn el que, al estar mutado, ocasiona la pérdida de copias. Por lo tanto, la herencia ya no es exclusivamente materna, sino que sigue leyes mendelianas. Predominantemente estos síndromes se heredan de forma autosómica recesiva. Por supuesto, también pueden aparecer estas disminuciones en el número de copias de ADNmt de forma esporádica o *de novo*. Se han descrito

tres formas de presentación clínica para un grupo tan variado y heterogéneo: miopática, encefalomiopática y hepatocerebral <sup>4</sup>.

La enfermedad mitocondrial que ocurre tras la aparición de mutaciones en genes nucleares que codifican para componentes de la mitocondria son más frecuentes en la población pediátrica, especialmente si existe consanguineidad entre los parentales. Sin embargo, las variantes patogénicas descritas anteriormente suelen afectar en mayor medida a población ya adulta <sup>14</sup>. Este tipo de mutaciones siguen las leyes mendelianas a la hora de transmitirse a la descendencia (autosómica dominante, autosómica recesiva o ligado al X). A su vez, estas mutaciones pueden producir deficiencias aisladas en el sistema OXPHOS, deficiencias múltiples en el mismo sistema, o producir alteraciones no relacionadas con la cadena de fosforilación oxidativa (por ejemplo, en el ciclo de Krebs) <sup>5</sup>.

Para ya finalizar esta introducción, la enfermedad de LHON como se ha mencionado anteriormente, se debe a la aparición de tres principales variantes patogénicas, mutaciones génicas, de cambio de sentido que ocasionan una importante clínica que detallaremos más adelante.

### **3. OBJETIVOS**

**Objetivo principal:** conocer en profundidad la enfermedad, a través de la elaboración de una revisión narrativa. Particularmente, identificar en el futuro a posibles pacientes con la enfermedad, llevar a cabo un adecuado diagnóstico y poder ofrecerles un tratamiento y asesoramiento genético de calidad.

**Objetivos secundarios:**

- Conocer el funcionamiento de la genética mitocondrial y su implicación en la fisiología humana.
- Ser capaz de identificar signos y síntomas de alarma que nos orienten hacia una enfermedad mitocondrial.
- Conocer alternativas diagnósticas y terapéuticas para las enfermedades mitocondriales y en concreto, las técnicas actualmente desarrolladas y de aplicación en genética, para el tratamiento y prevención de enfermedades como la enfermedad.
- Descubrir los diferentes mecanismos de análisis genético de los que se dispone en un laboratorio, y aprender cuándo solicitar uno determinado en función de las características genéticas de la enfermedad.
- Ser capaz de asesorar genéticamente a un probando, consultante, o familiares de ambos, sobre el riesgo y las probabilidades de estar afectado por una enfermedad mitocondrial o en su defecto, de transmitirlo a su descendencia.

#### 4. MATERIAL Y MÉTODOS

El siguiente trabajo se ha diseñado como una revisión bibliográfica de los artículos adecuados y disponibles sobre la enfermedad de LHON, pero también acerca de la genética mitocondrial. Para ello se utilizó el motor de búsqueda *PubMed* y como gestor bibliográfico el programa *Mendeley*. La búsqueda bibliográfica tuvo lugar entre diciembre de 2020 y abril de 2021.

La estrategia de búsqueda comenzó gracias a mi directora de este TFG, la Dra. Sonia Emperador Ortiz, me facilitó desde un comienzo una serie de artículos que ella consideraba necesarios para comenzar a adquirir conocimientos sobre la enfermedad y que posteriormente emplee a lo largo del trabajo. Éstos me permitieron orientarme acerca del tema y poder elaborar un esquema inicial para comenzar a trabajar.

En un inicio, la búsqueda se centró en un estudio exhaustivo de la genética mitocondrial y de otras enfermedades mitocondriales, necesario para poder entender el síndrome que da sentido a este trabajo. Uno de los motivos para llevar a cabo esta revisión bibliográfica inicial sobre las enfermedades mitocondriales, está justificado, por las dificultades que presenta el propio ADNmt. Además, es importante revisar la bibliografía existente sobre estas enfermedades para conocer otros síndromes y así poder elaborar un adecuado diagnóstico diferencial de la enfermedad de LHON. Entre las palabras clave para seleccionar los artículos se utilizaron: “MITOCHONDRIAL GENOME”; “ADNmt”; “MITOCHONDRIAL DISEASES”. Se establecieron como límites temporales los años entre el 2000 y el 2021 y en cuanto al idioma se limitó a inglés y español. En total se seleccionaron un total de 27 artículos, que se revisaron de forma general, para finalmente seleccionar 21 artículos que sí se revisaron exhaustivamente.

A continuación, se procedió a revisar las publicaciones disponibles en *PubMed* sobre la enfermedad de LHON. Para poder acercar la búsqueda a los artículos más interesantes utilicé las combinaciones de “LHON” junto con el aspecto concreto que interesaba revisar. Por ejemplo, “LHON” “CLINICAL”; “LHON” “GENETIC COUNSELING”; “LHON TREATMENT”. Se establecieron los mismos criterios temporales que en el apartado anterior. Finalmente, se excluyeron de la búsqueda inicial aquellos artículos que a través del “Abstract” expusiesen un caso clínico que representase un caso aislado. En un inicio se seleccionaron 26 artículos, de los cuales se descartaron 5, debido a la escasez de información relevante para la revisión, al tratar de temas demasiado concretos y con escasa evidencia. Finalmente se emplearon 20 de estos artículos que se revisaron completamente. Es importante recalcar, que los artículos iniciales leídos, permitieron obtener de su propia bibliografía otros artículos útiles para la revisión.

Además de *PubMed*, también se utilizó la base de datos multidisciplinar *ScienceDirect*, pero los resultados encontrados fueron coincidentes con los de la primera y el portal de enfermedades raras *Orphanet*, para la búsqueda de una prevalencia reciente en la población europea.

## **5. RESULTADOS**

### **5.1. Breve introducción a la enfermedad de LHON**

La enfermedad de LHON o Neuropatía Óptica Hereditaria de Leber es una enfermedad mitocondrial, claramente hereditaria, relativamente común, que se caracteriza por la pérdida de visión bilateral. En concreto, la clínica de esta curiosa patología se manifiesta por una ceguera, que inicialmente afecta a uno de los dos ojos, indolora, subaguda, y que progresa en un corto periodo de tiempo, afectando al otro ojo en un corto periodo de tiempo <sup>17</sup>.

A pesar de ser una gran desconocida por parte de multitud de profesionales de la salud, es la forma más común de neuropatía óptica hereditaria y la enfermedad mitocondrial más frecuente <sup>18</sup>. Ya en 1871, un oftalmólogo alemán llamado Theodore Leber, habló de ella como una entidad propia <sup>19</sup>. Douglas C. Wallace, junto a su equipo, fueron los primeros en descubrir las mutaciones que causaban la enfermedad, en concreto en la subunidad ND4 del complejo I mitocondrial <sup>19</sup>. A su vez, fue la primera enfermedad humana en poner de manifiesto alteraciones en el ADNmt como responsables de su etiología debido a su modo de heredabilidad exclusivamente materno <sup>4</sup>.

### **5.2. Epidemiología de la enfermedad de LHON**

La neuropatía óptica de Leber o enfermedad de LHON es la enfermedad mitocondrial que con mayor frecuencia afecta a la población <sup>17, 20, 21</sup>.

Su prevalencia varía en función de las diferentes localizaciones geográficas. Según *Orphanet*, la prevalencia en Europa se estima en 1 de cada 27.000 a 1 de cada 54.000 <sup>22</sup>. Según datos más concretos, para el Norte de Europa dicha prevalencia oscila entre 1 de cada 30.000 y 1 de cada 50.000 individuos <sup>18</sup>. En la revisión llevada a cabo por *Karaarslan* en 2019, se ajustan más los datos para afirmar que la prevalencia es de 1 de cada 30.000 <sup>15, 17</sup>. Otros artículos proponen que en el Noreste de Inglaterra se sitúe en 1 de cada 25.000 <sup>23</sup> y en 1 de cada 8.500 individuos la prevalencia de portadores de una variante patogénica responsable de la enfermedad de LHON <sup>17</sup>. Según los diferentes países, las prevalencias calculadas son las siguientes: en el Norte del Reino Unido se ha calculado en 1 de cada 31.000 <sup>23</sup>; en Australia, se estima que un 2% de las personas registradas oficialmente como incapacitados visuales están afectados de la enfermedad de LHON <sup>20</sup> considerando la prevalencia total según *K. Ueda* (2017) en 1 de cada 113.300 <sup>23</sup>; para la población finlandesa la prevalencia es más baja, afectando a 1 de cada 48.000 adultos; en Dinamarca se estima en 1 de cada 54.000; para la población Serbia, se ha demostrado la prevalencia mínima, siendo esta de 1 de cada 526.000 adultos. A través de todos estos datos podemos hablar de diferencias epidemiológicas con respecto a la enfermedad en función de la etnia. Podemos concluir que según la localización geográfica, la enfermedad de LHON, afecta a



mayor o menor porcentaje de la población <sup>23</sup>. De la misma manera, las mutaciones también se distribuyen de diferente manera diferente según los países, como por ejemplo la mutación m.11778G>A afecta principalmente al norte de Europa (un 70% de los pacientes) y es muy abundante en la población asiática (un 90%). Sin embargo, la mutación m.14484T>C es más frecuente en Canadienses franceses <sup>17</sup>.

La incidencia, resulta más difícil de establecer, debido a que se trata de una enfermedad poco frecuente y cuyo diagnóstico se ha subestimado. En Japón se ha reportado recientemente que 1 de cada 1.000.000 son diagnosticados de la enfermedad de LHON al año <sup>18</sup>. En este mismo estudio llevado a cabo en 2014, se expone que aproximadamente 120 individuos fueron diagnosticados de esta neuropatía óptica hereditaria a través de confirmación genética durante ese mismo año. En concreto, dicho estudio, calculó el conocido como “Ir”, e interpretado como el número de pacientes que se diagnosticó durante ese mismo año a nivel nacional, con un intervalo de confianza del 95%, y este situó la incidencia en 117 <sup>23</sup>.

Es muy llamativo en cuanto a la epidemiología de esta enfermedad las diferencias existentes entre sexos. La enfermedad de LHON afecta en un porcentaje muy superior a varones, en comparación con mujeres. De hecho, en cuanto a los datos disponibles, la mayoría de estudios hablan de que solo el 10% de las mujeres que poseen una de las variantes patogénicas en el ADNmt asociada a la enfermedad, desarrollan la clínica, frente al 50% de los hombres que sí lo hacen <sup>20</sup>.

En conjunto, se puede hablar de una baja penetrancia de la enfermedad <sup>17</sup>. A través de las diferencias entre sexos, también se pone de manifiesto la penetrancia incompleta de la enfermedad, así como la existencia de vías relacionadas con el género que actuarían en su desarrollo. Por lo tanto, además de las alteraciones genéticas, existen otros factores que modulan la expresión fenotípica de la enfermedad <sup>20</sup>. Se ha propuesto para explicar el por qué las mujeres padecen menos la enfermedad, a pesar de estar genéticamente afectadas, el factor protector de las hormonas, en concreto de los estrógenos <sup>11</sup>. Esta idea ha hecho plantear diferentes hipótesis que no han sido demostradas todavía. Una de ellas hace referencia a que las células ganglionares de la retina, que son las afectadas por esta enfermedad, expresan elevados niveles de receptor  $\beta$  para estrógenos, así como derivados de estos. Determinados estudios afirman el efecto neuroprotector de estas hormonas sobre las células ganglionares de la retina y se han llegado incluso a utilizar en terapias experimentales. Si esta idea fuese totalmente cierta, las mujeres, antes de la pubertad y postmenopáusicas, debido a la menor exposición a los estrógenos, presentarían mayor riesgo de desarrollar la enfermedad. Por el contrario, no se han encontrado picos de incidencia dentro de estos grupos de edades <sup>18</sup>.

Otra teoría de las que se han propuesto para explicar la importante afectación masculina frente a las mujeres es un factor protector asociado al cromosoma X, en concreto un gen modificador nuclear <sup>18</sup>. En este sentido, las vías de género defienden la idea del efecto protector del doble

cromosoma X para las mujeres frente a las variantes del cromosoma X que aumentan la susceptibilidad de sufrir la enfermedad de LHON <sup>15</sup>.

En cuanto a la penetrancia incompleta en la Neuropatía Óptica Hereditaria de Leber, el 60% de los pacientes refieren tener antecedentes familiares de pérdida de visión y problemas oftalmológicos <sup>20</sup>. Sin embargo existen multitud de diferencias entre pacientes con las mismas variantes patogénicas, de diferentes familias e incluso, dentro de una misma rama familiar en cuanto a la penetrancia de la enfermedad <sup>17, 18</sup>. En este mismo sentido han reportado casos de gemelos idénticos, afectados por la mutación, donde uno de ellos desarrolló la enfermedad y, sin embargo, el otro hermano, no se vio afectado hasta mucho tiempo después. Para explicar la variabilidad entre individuos en cuanto a la penetrancia, se ha propuesto, entre otras, la idea de los haplogrupos del ADNmt <sup>15</sup>.

En relación con la penetrancia, y por lo tanto el riesgo de pérdida de visión, los factores que mayor relevancia parecen tener son la edad y el sexo. Con respecto al sexo, ya hemos visto que las mujeres cuentan con una especie de factor protector, relativamente desconocido que conlleva que desarrollen menos la enfermedad. La edad es un factor también muy importante en cuanto a la patogénesis de la enfermedad. Se puede considerar que la penetrancia de la enfermedad de LHON depende de la edad del paciente. Para las 3 mutaciones principales que ocasionan la enfermedad el percentil 95% de los pacientes tiene menos de 50 años. Por lo tanto un varón, no afectado por la enfermedad, que sobrepase los 50 años de edad, tiene muy pocas probabilidades de quedarse en un futuro ciego <sup>17</sup>. Esta neuropatía óptica hereditaria es una enfermedad que afecta con cierta predilección a adultos jóvenes, entre la 2ª y 3ª década de la vida. Sin embargo, menos de un 10% de los pacientes tienen una edad inferior a 12 años. Cuando la enfermedad afecta a niños y adolescentes parece tener un mejor pronóstico en comparación con los adultos (Tabla 1) <sup>18</sup>.

Mitochondrial DNA Pathogenic Variant	Risk of Developing Symptoms		Median Age at Onset (Males)	Male/Female Ratio	Reference
	Males	Females			
m.3460G>A	32%	15%	20 yrs	4.3:1	Nikoskelainen [1994]
m.3460G>A	49%	28%	22 yrs	1.7:1	Yu-Wai-Man et al [2003]
m.11778G>A	43%	11%	24 yrs	3.7:1	Harding et al [1995]
m.11778G>A	51%	9%	22 yrs	5.1:1	Yu-Wai-Man et al [2003]
m.14484T>C	47%	8%	20 yrs	7.7:1	Macmillan et al [1998]

**Tabla 1:** Riesgo de pérdida de la visión a lo largo de la vida, en función del sexo y edad media a la que debuta cada mutación según diferentes estudios <sup>17</sup>.

Finalmente, las diferencias en cuanto a las vías de género y la penetrancia, nos llevan a pensar que la enfermedad de LHON se puede definir a través de una bases genéticas adecuadamente establecidas, pero que en conjunto, se trata de una enfermedad multifactorial <sup>15</sup>.

De hecho, multitud de estudios se han dirigido a comprobar el papel de los factores ambientales en el desarrollo de dicha enfermedad, como moduladores del mismo. Entre aquellos que los pacientes apuntaron como circundantes al momento de la aparición de la enfermedad destacan: el estrés psicológico, los traumas físicos importantes, la malnutrición y la quimioterapia. En esta misma línea de investigación se ha estudiado el efecto del tabaco y el alcohol como “triggers” o desencadenantes ambientales de la enfermedad. Se ha documentado que especialmente los fumadores importantes presentan un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad frente a los que no, por la acumulación de mutaciones que afectan al ADNmt y se añaden a las del genotipo del paciente. De la misma manera, se han desarrollado estudios donde se utiliza como factor de exposición el tabaco en función del sexo, presentando así que el 90% de los varones que son grandes fumadores y poseen la mutación para la enfermedad de LHON la desarrollan, frente a los 2/3 de varones no fumadores portadores que la sufren, y 1/3 de las mujeres fumadoras portadoras de la mutación que también la desarrollan <sup>15</sup>. Además, la relación de la enfermedad mitocondrial de LHON con el tabaco ha podido demostrarse gracias a estudios in vitro, en los que se utilizaban fibroblastos afectados por la enfermedad y fibroblastos portadores de la mutación pero sanos. Sin embargo, con respecto al alcohol no se ha demostrado de manera tan eficaz su papel en el desarrollo de la enfermedad <sup>18</sup>.

Los factores ambientales parecen tener un papel más llamativo en aquellos pacientes que desarrollan la enfermedad en edades más avanzadas que la media. Una explicación para ello es el hecho de que presenten cargas bajas de la mutación, al ser individuos heteroplásmicos, pero que con el paso del tiempo, y la exposición a estos “triggers” superen el umbral de exposición <sup>18</sup>.

### **5.3. Etiología y fisiopatología de la enfermedad de LHON**

La enfermedad de LHON es una enfermedad mitocondrial en cuya etiología nos encontramos con diferentes mutaciones puntuales en el ADNmt, afectando a los genes que codifican para diferentes componentes del sistema OXPHOS. Como consecuencia, se produce la pérdida de las células ganglionares de la retina ya que parecen ser las más sensibles a la disfunción mitocondrial y metabólica <sup>24</sup>.

Se trata de mutaciones génicas, puesto que se producen en el contexto de un único gen. Frente a otras enfermedades en las que se producen cambios en la secuencia del genoma que afectan a millones de pares de bases, en el caso de la enfermedad que tratamos, es una simple sustitución de uno de estos pares por otro <sup>16</sup>.

Si recordamos del apartado referente al genoma mitocondrial (Apartado 3.2. Genética mitocondrial), debemos saber que el ADNmt codifica para 13 polipéptidos que forman parte de 4 de los 5 complejos que componen el sistema OXPHOS. Las mutaciones que causan la enfermedad de LHON afectan en concreto al complejo I (NADH: ubiquinona oxidoreductasa), y más

específicamente a las subunidades ND1, ND4 y ND6<sup>19,25</sup>. Resulta importante mencionar el funcionamiento del sistema OXPHOS y en concreto el del complejo I para entender mejor la patogénesis de la enfermedad. Dicho sistema se encuentra formado por un total de 5 complejos multienzimáticos y dos transportadores de electrones móviles: el Coenzima Q (CoQ) y el Citocromo c. La función del complejo I, III y IV (también llamado citocromo c oxidasa), es el bombeo de electrones a través de la membrana mitocondrial interna, gracias a potenciales redox.<sup>26</sup>

Las variantes patogénicas que afectan a estos genes, y son responsables de la enfermedad, son 3 principalmente, que afectan a aproximadamente un 90%-95% de los pacientes que sufren esta neuropatía óptica. Igualmente se han encontrado mutaciones, mucho menos frecuentes, que afectan a familias concretas principalmente<sup>25</sup>.

Dichas mutaciones, son las siguientes: m.3460G>A que afecta a la subunidad ND1, codificante de la NADH deshidrogenasa I; m.11778G>A que afecta a la subunidad ND4, codificante de la NADH deshidrogenasa 4; y m.14484T>C que afecta a la subunidad ND6, codificante de la NADH deshidrogenasa 6. Se trata de mutaciones puntuales, de las denominadas sin sentido, que provocan el cambio de un aminoácido por otro<sup>15</sup>.

Dichas variantes no afectan de la misma manera a todos los pacientes con la enfermedad de LHON, siendo la mutación mayoritaria la m.11778G>A estando presente entre un 50-70% de los pacientes. En segundo lugar predomina con un 8% a un 25% la mutación m.3460G>A, y por último la más minoritaria es la mutación m.14484T>C entre un 10% y un 15% de los casos de la enfermedad<sup>15</sup>.

Resulta importante conocer la variante exacta que causa la enfermedad puesto que, en algunos casos, ejerce un papel determinante en el pronóstico de la enfermedad. En algunos pacientes se produce una recuperación de cierto grado de la visión, nunca llegando a ser completa. Dicha recuperación depende en gran parte, tal y como demuestran los estudios, de la variante patogénica que sufre el paciente<sup>18</sup>. La variante patogénica m.3460G>A se asocia con una pérdida de la visión más severa y un pronóstico en cuanto a la recuperación intermedio, con tasas entre el 15 y el 25% de los pacientes. Sin embargo, la mutación m.14484T>C presenta las mejores tasas de recuperación espontánea de la visión, con porcentajes entre 37 y el 64% de los pacientes. Por último, la tercera variante, m.11778G>A se caracteriza por presentar un fenotipo intermedio y una menor recuperación de la visión, con tasas de entre el 4 y el 25% de los pacientes<sup>(17,23)</sup>.

En cuanto a la fisiopatología de la enfermedad se han propuesto varias hipótesis, y muchas de ellas continúan en estudio. Se conoce que son las células ganglionares de la retina las más sensibles a la alteración en el genoma mitocondrial que tiene lugar en esta enfermedad<sup>20,24</sup>. Las fibras nerviosas que se encargan de la visión central son las primeras en afectarse, en concreto, el grupo de células ganglionares de la zona papilo-macular. El motivo por el que son estas fibras centrales las más sensibles se debe al pequeño diámetro de sus axones y a unas necesidades

energéticas muy elevadas. Los axones de las fibras ganglionares muestran como las mitocondrias se agrupan en la capa de fibras nerviosas preliminares y van disminuyendo en número hacia la zona posterior, en la lámina cribosa, donde los axones comienzan a mielinizarse. La distribución desigual del número de mitocondrias en función de la parte del axón en la que nos encontremos, explica por qué la parte desmielinizada es la que primero se afecta. Es cierto, que todavía no se puede afirmar si es el descenso de ATP, o la elevada producción de ROS que no se metabolizan, o la combinación de ambos, lo que desencadena la pérdida de estas fibras. Estudios llevados a cabo con ratones modificados genéticamente para expresar características de la enfermedad, han demostrado que la producción de ATP era la suficiente, y sin embargo lo que se encontraba en exceso era la producción de ROS <sup>24</sup>.

Sin embargo, contraria a la hipótesis de la elevada necesidad energética de las células ganglionares como explicación para su deterioro se han puesto de manifiesto otros argumentos. Uno de ellos es la demostración de que los fotorreceptores de la retina presentan unas demandas de moléculas de ATP muy superiores a las de las células ganglionares, por lo que deberían también verse afectados. Otro argumento en contra es el hecho de que otras mitocondriopatías, donde el complejo I del sistema OXPHOS también se encuentra afectado y sin embargo, no cursan con atrofia óptica <sup>20</sup>.

Existe una enfermedad denominada Atrofia Óptica Autosómica Dominante (DOA), que al igual que en la enfermedad de LHON, la atrofia óptica ocurre por una degeneración de las células ganglionares. En el caso de esta enfermedad, la etiología reside en una alteración genética en el cromosoma 3 que afecta a una GTPasa cuyas principales funciones son el transporte vesicular y el mantenimiento de la membrana mitocondrial externa. Por lo tanto, se puede concluir que el correcto funcionamiento de este orgánulo incide directamente en la estabilidad de las células ganglionares <sup>20</sup>.

Otros estudios han puesto el foco en la apoptosis de las células ganglionares de la retina como última responsable de la patogénesis de la enfermedad. Por supuesto, de manera coherente con la mayoría de hipótesis, pero concediendo especial protagonismo a esta vía celular. Según estas teorías, la cardiolipina, un fosfolípido aniónico, que mantiene la curvatura de las crestas mitocondriales, se encuentra disminuido como consecuencia de la enfermedad. Por este motivo, al existir menos crestas mitocondriales la respiración mitocondrial produce menos ATP y la producción de ROS está aumentada. Al aumentar estos últimos, la cardiolipina, migra hacia la cara externa de la membrana mitocondrial interna, donde tiene lugar su peroxidación. Para que esta reacción se produzca interviene una enzima denominada “peroxidasa específica de cardiolipina” que depende del citocromo c y que promueve la liberación de factores pro-apoptóticos <sup>27</sup>.

#### **5.4. Clínica de la enfermedad de LHON**

La neuropatía óptica hereditaria de Leber se caracteriza clínicamente por la pérdida de la visión, a menudo y mayoritariamente, de manera bilateral y que cursa de forma indolora. Es esta una de las características que la hacen tan especial, y es que no causa dolor en el paciente que la sufre<sup>20</sup>. También, a pesar de tratarse de una enfermedad mitocondrial, no es una enfermedad multisistémica en la gran mayoría de los casos, y de manera selectiva solo se encuentra afectado el aparato de la visión<sup>4</sup>. Suele tener un curso subagudo, y de hecho en determinados pacientes esta pérdida de visión pasa desapercibida hasta que no se ve involucrado el segundo ojo. En algunas de las personas afectadas, en concreto en el 25% de los pacientes, este desarrollo es brusco y agudo, viéndose afectada la visión de ambos ojos simultáneamente<sup>24</sup>.

En cuanto al desarrollo de la enfermedad, tiene lugar en el contexto de una serie de fases donde se van produciendo los cambios que conducen a la pérdida del sentido de la vista. En un inicio, los pacientes pasan por una fase presintomática o asintomática donde no presentan clínica de ningún tipo. Sin embargo, se ha podido constatar a través de diferentes estudios en pacientes portadores de la mutación, anomalías en el fondo de ojo. Entre estas alteraciones podemos encontrar vasos telangiectásicos peripapilares y grados variables de edema en la capa de fibras nerviosas de la retina<sup>17</sup>. En esta misma línea, otros estudios coinciden en que la tumefacción, apreciada con el fondo de ojo, de la zona inferotemporal de esta capa, determina la progresión a enfermedad de LHON. Posteriormente, este edema localizado en un inicio, se extiende hacia otras zonas de forma circunferencial, alrededor del disco óptico<sup>18</sup>.

Gracias a la Tomografía Óptica Computarizada (OCT) se ha podido demostrar cómo se desarrollan los periodos y la fisiopatología de las células ganglionares de la retina, durante la fase subaguda de la enfermedad<sup>18</sup>. Al igual que en el fondo de ojo, en la OCT se aprecia el engrosamiento de la capa de fibras nerviosas de la retina temporal ya en esta fase asintomática<sup>17</sup>. Dicha alteración en la capa de fibras nerviosas, junto con la disminución de la amplitud en el electroretinograma en patrón, se considera un marcador pronóstico, que confirma el desarrollo de la enfermedad<sup>28</sup>. A su vez, se ha comprobado que existen cambios previos en la mácula, puestos de manifiesto por el grosor de las células ganglionares y de la capa plexiforme interna de la retina, que se manifiestan antes de que lo haga el edema de la capa de fibras nerviosas, en la zona peripapilar y que compone la fase aguda de la enfermedad<sup>18</sup>.

El haz papilomacular (constituido por los axones de las células ganglionares que proceden de la zona más central de la retina, la mácula, y llegan al borde temporal del nervio óptico siguiendo un trayecto prácticamente rectilíneo) es el que con mayor incidencia suele afectarse<sup>17</sup>.

Como aspectos predictivos del desarrollo de la enfermedad se ha constatado un aumento en la capa de fibras nerviosas de la retina y alteraciones en la perimetría de campo de Humphrey entre 4 y 6 meses antes de que el paciente comience a mostrar síntomas<sup>18</sup>.

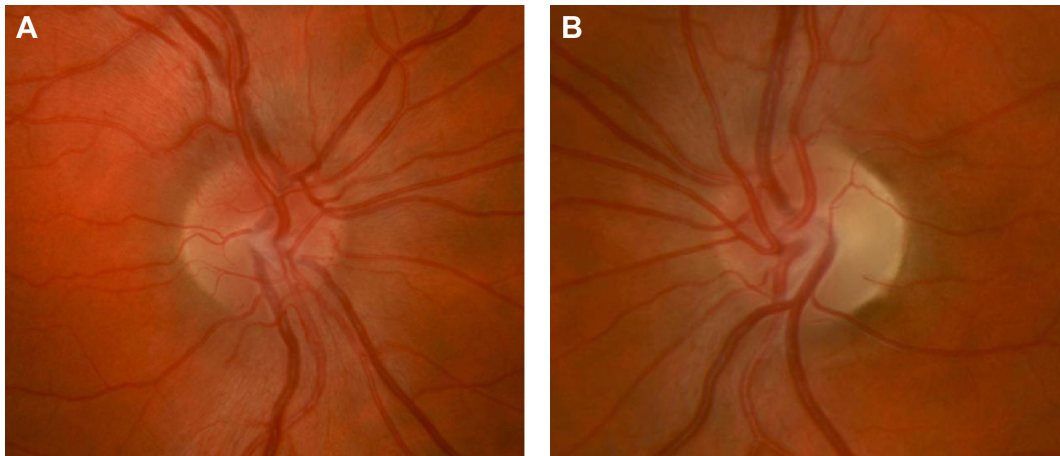
Los pacientes portadores de una variante patogénica de la enfermedad también pueden presentar en esta fase presintomática otras alteraciones en la función del nervio óptico, como la pérdida del grado de visión de los colores, especialmente del sistema rojo-verde (discromatopsia), reducción de la sensibilidad al contraste, cambios mínimos en la visión central, así como el electroretinograma y los potenciales visuales evocados ligeramente disminuidos<sup>29</sup>.

Conocer la fase aguda de la enfermedad es muy importante, puesto que, junto con la exploración del paciente, nos va a permitir elaborar un diagnóstico de certeza, aunque la confirmación diagnóstica la aporte el estudio genético<sup>28</sup>. En relación a esta etapa existen una serie de características que ya se han ido nombrando a lo largo del texto, pero que merece la pena recordar: pérdida de la visión inicialmente unilateral (un 25% presentan un debut bilateral); escotoma central; indolora; desarrollándose en un plazo de entre 6 y 8 semanas la afectación del ojo contralateral<sup>29</sup>. Sobre este último aspecto, otros estudios amplían más este periodo a entre 2 y 3 meses, estableciendo un límite de 6 meses, para la afectación bilateral<sup>17</sup>. Se han descrito casos extraños donde esta neuropatía óptica es unilateral, pero la mayoría de los pacientes, en el plazo de un año han perdido la visión en ambos ojos. Gracias a las técnicas de imagen, ha sido posible determinar que 6 semanas antes de que comience la pérdida de visión en el otro ojo, el grosor de la capa plexiforme interna ya ha disminuido y el máximo espesor de la mácula en el segundo ojo se alcanza dentro de los 6 primeros meses<sup>18</sup>.

A pesar de exista un pico de incidencia entre los 20 y los 30 años de edad, no podemos excluir el diagnóstico en pacientes que se encuentren fuera del mismo, ya que, desde la primera hasta la séptima década, pueden aparecer los primeros síntomas<sup>29</sup>.

En esta fase aguda, el paciente desarrolla de manera aguda o subaguda, un emborronamiento de la visión unilateral, que deja paso a un escotoma central o centrocecal, grande, que progresivamente y sin causar dolor, aumenta en tamaño y densidad. Como consecuencia, la agudeza visual del paciente sufre un deterioro paulatino de gran importancia. A partir del debut de esta fase, la agudeza visual progresivamente decae hasta alcanzar niveles de 6/60, impidiendo al paciente incluso contar los dedos de una mano. La visión de los colores también experimenta un gran deterioro<sup>29</sup>. Todo este proceso ocurre durante un periodo de entre 4 y 6 semanas, hasta que la pérdida de la visión se estanca y alcanza su peor resultado<sup>20</sup>.

En el fondo de ojo se pueden apreciar una serie de parámetros anormales que nos orientan hacia el diagnóstico de la enfermedad. Si en la fase pre-sintomática se observaba especialmente el edema de la capa de fibras nerviosas de la retina en la zona infratemporal; la fase sintomática se caracteriza por un aumento de esta tumefacción. A medida que pasa el tiempo se ven afectados por el edema los haces que conforman la arcada superior e inferior y rápidamente se pierde el haz papilomacular<sup>30</sup>. También es cierto que en algunos pacientes el disco óptico guarda una apariencia prácticamente normal, pero lo normal es encontrarlo hiperémico, con telangectasias peripapilares y vasos tortuosos en la zona central de la retina (Figura 3)<sup>18</sup>.



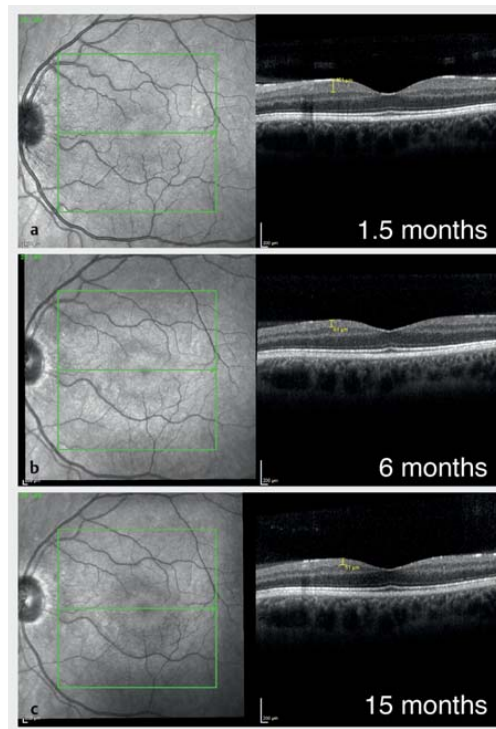
**Figura 3.** Imagen A: paciente con LHON en fase aguda. Se observa: leve hiperemia del nervio óptico, borramiento de los límites del disco, elevación de la cabeza del nervio óptico. Todo ello debido al edema de la capa de fibras nerviosas de la retina peripapilar. Imagen B: prominente atrofia óptica (palidez) en fase crónica de la enfermedad <sup>24</sup>.

El grosor de la capa de fibras nerviosas de la retina, medido por OCT, nos permite comprobar el estado del nervio óptico. En la fase asintomática se observaba un engrosamiento de esta capa en la zona temporal y, sin embargo, una vez la enfermedad ha debutado, el primer cuadrante en perder espesor es el temporal, posteriormente el inferior, el superior y por último el cuadrante nasal. El adelgazamiento de esta zona de la retina resulta especialmente llamativa con respecto al resto de localizaciones durante esta fase aguda. Simultáneamente a que esto ocurra, aumenta el grosor de esta capa en el resto de cuadrantes, lo que resulta muy importante clínicamente para poder sospechar de la enfermedad. La ausencia de adelgazamiento, e incluso el que el cuadrante inferior, superior y nasal se encuentren engrosados en combinación con pérdida de agudeza visual implica que las células ganglionares de la retina están sufriendo o incluso en un estado apoptótico <sup>31</sup>.

Por último, la parte crónica de la enfermedad, o también llamada fase atrófica, comienza aproximadamente unas 6 semanas después del debut de la sintomatología <sup>29</sup>. Se caracteriza oftalmológicamente por una atrofia del disco óptico. Clínicamente el escotoma central o centrocecal se hace especialmente denso y la visión se estabiliza en un punto de muy probablemente no mejora <sup>17</sup>. La palidez del nervio óptico es más llamativa en la zona temporal, a consecuencia de la afectación inicial y primaria del haz papilomacular, junto con un abombamiento del disco óptico a consecuencia de la pérdida de los axones de las células ganglionares <sup>29</sup>. La conclusión es que a medida que la enfermedad avanza el engrosamiento inicial



desaparece para dejar paso a un adelgazamiento de la capa de fibras nerviosas de la retina, consecuencia de la apoptosis de las células ganglionares. La atrofia óptica sustituye al pseudoedema inicial (Figura 4) <sup>31</sup>.



**Figura 4.** Imágenes de Tomografía Óptica Computarizada, representada a la derecha, donde en amarillo se señala el grosor de la capa de células ganglionares de la retina en diferentes periodos de tiempo. A las 6 semanas, apenas se ha reducido todavía, mientras que a los 6 meses está claramente disminuida. A los 15 meses se observa una estabilización en la reducción. Las imágenes de la izquierda muestran un fondo de ojo con luz infrarroja en diferentes estadios de la enfermedad. Se observa como a las 6 semanas existe una abundante tortuosidad peripapilar, que desaparece a medida que pasa el tiempo <sup>32</sup>.

Como aspecto esperanzador dentro de esta enfermedad, existe la posibilidad de una recuperación espontánea de la visión, que puede ocurrir incluso años después de que el paciente la haya perdido. Dicha recuperación comienza con la aparición en el campo visual de pequeñas islas de visión dentro del escotoma central. Dicho fenómeno es más frecuente que se asocie a los pacientes que presentan la variante m.14484T>C. Como características de un mejor pronóstico se han establecido: la edad temprana en el debut de la enfermedad, una pérdida subaguda de la visión y que el tamaño del disco óptico sea grande <sup>24</sup>.

A pesar de haber mencionado que la enfermedad de LHON se caracterizaba por limitarse a un solo sistema, el sistema visual, existen los conocidos como Síndromes LHON-PLUS, donde en asociación con estas mutaciones y la clínica visual típica, aparecen otros signos y síntomas. En este contexto, además de la pérdida de las células ganglionares de la retina y de la degeneración

del nervio óptico, podemos encontrar una minoría de pacientes con manifestaciones extraoculares<sup>33</sup>. Dentro de las más frecuentes destacan las alteraciones neurológicas como el temblor postural, la neuropatía periférica y distonías e incluso un síndrome de Leigh. Las manifestaciones cardíacas, en concreto arritmias, también se han observado en determinados estudios, especialmente las debidas a vías accesorias de conducción. El músculo también puede verse afectado produciéndose miopatías<sup>17,33</sup>.

Por último, la Esclerosis Múltiple, se ha visto fuertemente asociada a la enfermedad, constituyendo el llamado síndrome LHON-MS (del inglés, *multiple sclerosis*) o también enfermedad de Harding<sup>34</sup>. Sin embargo, utilizando las prevalencias tanto de la enfermedad de LHON (portadores y afectados) y de Esclerosis Múltiple, se ha llegado a la conclusión que la asociación causal debería mostrar una incidencia muy superior<sup>17</sup>.

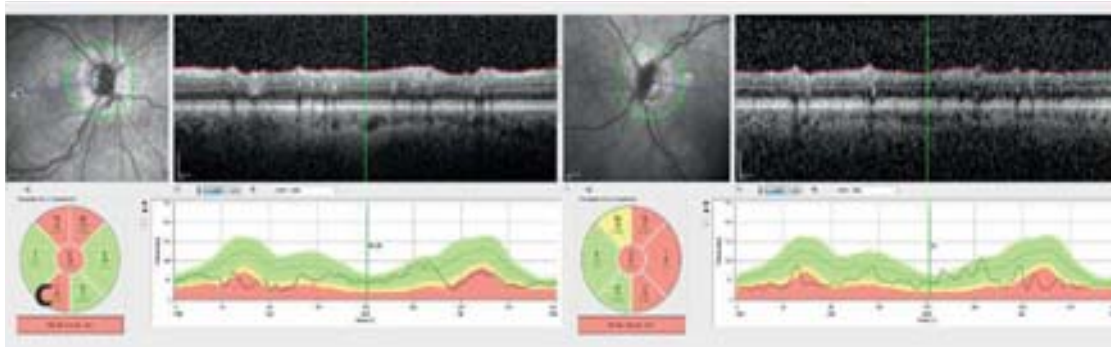
Por último, merece especial atención la enfermedad de LHON pediátrica, ya que a pesar de que el pico de incidencia se sitúe entre la segunda y tercera década de edad también se han descrito casos en la infancia. Este porcentaje supone menos del 10% de los pacientes diagnosticados de enfermedad de LHON, considerando a los menores de 12 años. En el caso de los niños, la enfermedad puede desarrollarse clínicamente de tres formas diferentes. La manera más habitual es que presente un curso agudo ( $\frac{2}{3}$  de los casos); en segundo lugar, puede adoptar la forma “lentamente progresiva” donde la disminución de la agudeza hasta el mínimo alcanzable supera los 6 meses; y por último la forma subclínica. En el caso de esta última, los individuos se diagnostican cuando todavía son asintomáticos pero presentan atrofia del disco óptico o alteraciones en la visión. Este modelo representa el 20% de los casos de niños con enfermedad de LHON y presenta importantes consecuencias porque el diagnóstico se retrasa mucho en el tiempo. Cabe destacar, que en el caso de la edad pediátrica, la enfermedad presenta un pronóstico mucho más positivo en comparación con los adultos<sup>18</sup>.

### **5.5. Diagnóstico de la enfermedad de LHON**

En el diagnóstico de la enfermedad de LHON podemos encontrar al paciente con familiares afectados que puede haber heredado la enfermedad por vía materna (un 60% de los pacientes)<sup>17</sup> o bien al que acude con clínica compatible con la enfermedad. En este último caso puede tratarse de una mutación *de novo* o del primer episodio en la familia en ser diagnosticado. En ambos casos, preguntar al elaborar la historia clínica por los antecedentes familiares, realizando una correcta anamnesis, será imprescindible, construyendo un árbol genealógico que incluya al menos tres generaciones<sup>35</sup>.

Nuestro papel como clínicos será el de establecer un diagnóstico de sospecha ante un paciente con la clínica típica de la enfermedad. En la historia clínica deberemos preguntar por otro tipo de sintomatología neurológica como por ejemplo temblor postural, neuropatía periférica, distonías,

antecedentes de esclerosis múltiple, problemas cardiológicos o miopatías inespecíficas, los cuales nos pueden orientar, puesto que en algunos casos se asocian a la enfermedad de LHON<sup>17</sup>. Al tratarse de una patología que afecta a la visión será indispensable llevar a cabo una exploración oftalmológica completa. Tendremos que realizar un examen del campo visual mediante una perimetría estática o cinética, donde se revelará un denso escotoma central o centrocecal. Por otra parte, al llevar a cabo el fondo de ojo podremos observar todos los hallazgos descritos en el apartado 6.4. Como punto de interés debemos saber que, determinados pacientes, en la fase aguda, con pérdida de visión, presentan un fondo de ojo completamente normal, en concreto un 20% de los mismos<sup>17</sup>. Por otra parte, la OCT nos permitirá evaluar el grosor de la capa de fibras nerviosas de la retina (Figura 5)<sup>36</sup>. Otra técnica diagnóstica que se utiliza para el diagnóstico es la angiografía con fluoresceína, que en el caso concreto de la enfermedad de LHON, demuestra que no existe extravasación de contraste, y que por lo tanto no hay afectación de la microvasculatura<sup>20</sup>. Por último, los estudios electrofisiológicos como el electroretinograma en patrón o los potenciales visuales evocados nos permiten demostrar la ausencia de enfermedad retiniana y la presencia de disfunción del nervio óptico<sup>17</sup>.



**Figura 5.** Imágenes de OCT donde se observa a la derecha el ojo derecho y a la izquierda el ojo izquierdo. Corresponde a un paciente con variante patogénica confirmada de LHON en cuyo ojo derecho muestra una reducción del grosor de la capa de fibras nerviosas en los cuadrantes superior e inferior (representado en color rojo). En el ojo izquierdo, observamos la reducción del grosor de dicha capa en el cuadrante temporal (representado en color rojo)<sup>37</sup>.

Es importante pensar en el caso de que nos encontremos ante un paciente en la fase atrófica de la enfermedad, habitualmente pasadas las 6 semanas del debut de su pérdida de visión, observaremos la atrofia óptica, e incluso un posible abombamiento del disco óptico. Si además añadimos que el paciente no presenta una historia materna positiva para la enfermedad de LHON u otra neuropatía óptica no filiada, el diagnóstico diferencial se amplía. En estos casos, deberemos plantear otras posibilidades diagnósticas como las causas compresivas, infiltrativas o inflamatorias<sup>29</sup>. Para ello podemos ayudarnos de pruebas complementarias de diagnóstico de imagen, como la resonancia

magnética o la tomografía computarizada. Estas pruebas nos permitirán descartar tumores que compriman el nervio óptico o enfermedades desmielinizantes como la Esclerosis Múltiple. En la mayoría de casos, ambas pruebas, suelen ser normales, o bien pueden mostrar una inflamación del nervio óptico y una distensión de la vaina, similar a una gliosis <sup>20</sup>.

Sin duda, la parte más importante, y la que nos va a confirmar el diagnóstico de la enfermedad de LHON es el estudio genético. Llegados a este punto, porque o bien existe una historia de herencia materna positiva o bien porque se han descartado otras posibles causas no genéticas y existe una alta sospecha clínica, se debe hacer un estudio genético dirigido a encontrar las tres principales variantes que causan la enfermedad. Las variantes patogénicas m.3460G>A, m.11778G>A y m.14484T>C, representan entre el 90-95% de los casos de la enfermedad <sup>17</sup>.

Si el estudio genético dirigido a localizar estas tres variantes patogénicas resulta negativo, existen otras alternativas para localizar variantes patogénicas menos frecuentes. Se puede llevar a cabo un panel multigen donde se incluyan otras variantes patogénicas que han sido reportadas en la literatura como causa de la enfermedad de LHON. En concreto los genes a estudiar son aquellos que forman parte del complejo I, y que codifican para las subunidades ND1, ND4 y ND6. A la hora de interpretar estos análisis, el clínico debe ser cauto, puesto que la sensibilidad de los mismos varía en función del laboratorio que los realiza <sup>17</sup>.

Por último, si no se consigue detectar una variante patogénica en el ADNmt que explique la enfermedad con el panel multigen, y la sospecha clínica continúa siendo elevada se puede recurrir a la secuenciación de todo el genoma mitocondrial en busca de mutaciones que ofrezcan una explicación etiológica <sup>17</sup>.

Una mención especial sobre las enfermedades mitocondriales, es que la patología en cuestión se puede desarrollar en un contexto de homoplasmia (lo más frecuente) o bien, de heteroplasmia. La heteroplasmia es un factor a tener en cuenta en la enfermedad de LHON que puede condicionar el diagnóstico y también el asesoramiento genético. Se estima que aproximadamente un 15% de los pacientes presentan la enfermedad en heteroplasmia, es decir, parte de su ADN está sano y parte mutado. La mayoría de los análisis genéticos toman como muestra la sangre del paciente, y en concreto extraen el ADN de los leucocitos. Si utilizamos la lógica, los tejidos donde la disfunción mitocondrial se pone de manifiesto, la retina o el nervio óptico, no están disponibles para llevar a cabo una biopsia y poder cuantificar aquí la cantidad de ADNmt mutado, por lo que debemos confiar en estos valores. La heteroplasmia se ha asociado a que los pacientes que la sufren, pueden permanecer mayor cantidad de tiempo asintomáticos y que en función del grado se establece la severidad de la enfermedad <sup>38</sup>. Sin embargo, se conoce que para poder desarrollar la enfermedad se necesita que se supere el umbral del 70% del ADNmt mutado <sup>17</sup>. Para cuantificar la heteroplasmia se suele utilizar también la sangre del paciente. Es importante conocer que este fenómeno en el que aparecen dos ADNmt diferentes, suele indicar que la enfermedad no se ha heredado por vía materna, sino que se trata de un nuevo evento mutacional, que ha surgido *de*

*novo*. Sobre la heteroplasmia hallada en sangre, no es extrapolable a otros tejidos e incluso se ha llegado a proponer que cuanto más baja sea la carga de ADNmt mutado en la sangre, mayor probabilidad de variabilidad de la misma en los diferentes tejidos. También se ha descrito que cuanto mayor sea el nivel de heteroplasmia, mayor probabilidad existe de que los ovocitos también presenten material genético mutado, con las repercusiones biológicas que ello conlleva<sup>38</sup>. Por último, en cuanto al diagnóstico diferencial, es muy importante desde un inicio, descartar otro tipo de causas que produzcan una pérdida de visión indolora. Para ello, otras pruebas que se deben llevar a cabo son el estudio de autoanticuerpos, de vasculitis y punción de LCR para descartar la presencia de bandas oligoclonales que indiquen enfermedad desmielinizante; o procesos infecciosos; así como neoplásicos<sup>17</sup>.

La neuritis óptica, que suele aparecer en la Esclerosis Múltiple, suele afectar a mujeres, jóvenes y se manifiestan junto con dolor a los movimientos oculares, además de tener una tendencia hacia la mejoría y ser unilaterales, lo que nos permite diferenciarlos de LHON. También podemos pensar en una neuritis tóxica, como un posible diagnóstico diferencial, que se caracteriza por una pérdida de agudeza visual progresiva, sin dolor. Para poder orientar el diagnóstico hacia esta causa o descartarla, deberemos preguntar por antecedentes de exposición a tóxicos, pedir perfiles en sangre y orina de metabolitos, así como también buscar clínica asociada, como por ejemplo anemia<sup>39</sup>.

Dentro del diagnóstico diferencial de la enfermedad de LHON debemos incluir la Atrofia Óptica Autosómica Dominante (DOA). Se trata de una enfermedad causada por una mutación en el gen *OPA1*, perteneciente al genoma nuclear pero que codifica para una proteína del mismo nombre que forma parte de la membrana mitocondrial interna. Se localiza en el cromosoma 3 y entre un 50-60% de los pacientes afectados presentan mutaciones en dicho gen<sup>29</sup>. El gen *OPA-1* al estar mutado produce que la proteína OPA1 codificada, se encuentre en cantidades insuficientes y no pueda ejercer adecuadamente su acción, lo que justifica la etiología de la enfermedad<sup>39</sup>.

En cuanto a la clínica de la Atrofia Óptica Autosómica Dominante, esta se caracteriza por una pérdida de visión, al igual que en la enfermedad de LHON, pero con un curso muy insidioso frente al subagudo o agudo de la primera<sup>39</sup>. De la misma manera la pérdida de la visión en esta enfermedad suele ser también indolora. Sin embargo, en la enfermedad de LHON habitualmente la afectación suele ser unilateral (75% de los casos) y en la DOA es una pérdida bilateral<sup>39</sup>. Resulta curioso que, en estudios llevados a cabo en el Norte de Inglaterra, comparten una prevalencia similar, de aproximadamente 1:30.000 habitantes. La edad de inicio de la atrofia óptica es más precoz, aproximadamente en la 1ª y 2ª década de la vida, mientras que en la enfermedad de LHON presenta un pico de incidencia entre la 2ª y la 3ª. La DOA se caracteriza por una elevada variabilidad inter e intra familiar, pudiendo existir individuos asintomáticos, en concreto un cuarto de los pacientes, que conservan en plenitud su agudeza visual. De hecho,

existen pacientes que son diagnosticados a partir de casos familiares, y no presentan en ese momento una disminución de la agudeza visual pero sí una atrofia óptica <sup>38</sup>.

Sobre la pérdida visual, en ambas enfermedades se suele producir un escotoma central, centrocecal o paracentral, pero que, en el caso de la DOA, respeta la visión periférica. Este hecho tiene lugar al afectarse, en las dos enfermedades, el haz papilomacular en primer lugar <sup>39</sup>. En el caso de la DOA, la mayoría de los pacientes presentan discromatopsia, un signo acompañante a la ceguera en la enfermedad de LHON, pero como signo patognomónico de la atrofia destaca la tritanopia (pérdida de la sensibilidad al color azul). Este signo está presente en aproximadamente un 10% de los pacientes. Además, en ambas enfermedades los reflejos pupilares se encuentran conservados (neuropatías). Por último, un 20% de los pacientes con DOA presentan otras manifestaciones clínicas, como sordera, oftalmoplejía externa progresiva crónica, ataxia, miopatía, neuropatía periférica, al igual que ocurría en la enfermedad de LHON <sup>29</sup>.

La exploración a través del fondo de ojo puede orientar el diagnóstico, ya que en el caso de la enfermedad de LHON, el disco óptico suele tener un aspecto hiperémico, mientras que en la DOA, se observa pálido y atrófico <sup>39</sup>. Por último, el pronóstico de la Atrofia Óptica Autosómica Dominante se estima más favorable que en la enfermedad de LHON, pero igualmente, muchos de los pacientes, acaban registrados oficialmente como ciegos <sup>29</sup>.

## **5.6. Tratamiento y nuevas terapias en la enfermedad de LHON**

La enfermedad de Leber está dentro de las pocas enfermedades mitocondriales en las que se ha aprobado un tratamiento específico para hacer frente a la clínica y patología de la misma. Sin embargo, las revisiones sistemáticas de Cochrane han sido poco positivas a la hora de afirmar que el beneficio sea realmente significativo. Este hecho, resulta reseñable puesto que la mayoría de las enfermedades mitocondriales, carecen de un tratamiento específico y dirigido <sup>14</sup>.

En primer lugar, sobre lo que respecta al tratamiento de este tipo de pacientes, son fundamentales las medidas de soporte, y así lo recogen la mayoría de las revisiones estudiadas en este trabajo. Será fundamental, una vez estabilizada la pérdida de visión, evaluar la agudeza visual del paciente corregida, para así proporcionarle las ayudas de baja visión requeridas. Existe también la rehabilitación visual, ya que estos pacientes conservan la visión periférica, y necesitan herramientas para poder aprovecharla; así como la terapia ocupacional, que les ayudará a llevar a cabo sus actividades básicas de la vida diaria <sup>17,24,29</sup>.

En esta misma línea, tanto los pacientes diagnosticados, como aquellos que son portadores de la mutación, han de evitar en la máxima medida, determinados factores ambientales. Tal y como se mencionaba en el apartado 6.2, el hábito tabáquico empeora el pronóstico de la enfermedad y por lo tanto los pacientes fumadores han de abandonarlo. Igualmente se han propuesto como factores de riesgo el consumo elevado de alcohol, tratamientos farmacológicos que produzcan toxicidad

mitocondrial, productos que contengan cianuro y la exposición a toxinas ambientales, especialmente durante la fase aguda de la pérdida de visión. Es muy importante que los pacientes eviten en todas sus formas la exposición a estos factores <sup>29,36</sup>.

Adicionalmente a estas circunstancias, los pacientes diagnosticados de enfermedad de LHON necesitan ser evaluados por un equipo multidisciplinar neurológico para garantizar que no existan otras manifestaciones que constituyan un síndrome de LHON-PLUS, sugestivas de ser tratadas. Por otra parte, está indicado solicitar la colaboración de Cardiología para la valoración de un posible síndrome de pre-excitación, observado en algunos pedigrís. En los casos en los que así se demuestre, el tratamiento será el mismo que en la población general <sup>17</sup>.

En cuanto a las terapias farmacológicas, determinados fármacos cobran especial importancia. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la enfermedad de LHON presenta una complicación a la hora de llevar a cabo un ensayo clínico, y es que, los pacientes afectados por la variante patogénica m.14484T>C, entre un 37 a un 58% de los casos, desarrollan una recuperación espontánea de la visión, lo que puede introducir sesgos en los estudios. Por eso se determinó que los mejores pacientes para ser candidatos a ensayo clínico eran los portadores de la variante m.11778G>A, que solo recuperaban la visión en un 4% de los casos <sup>24,27</sup>.

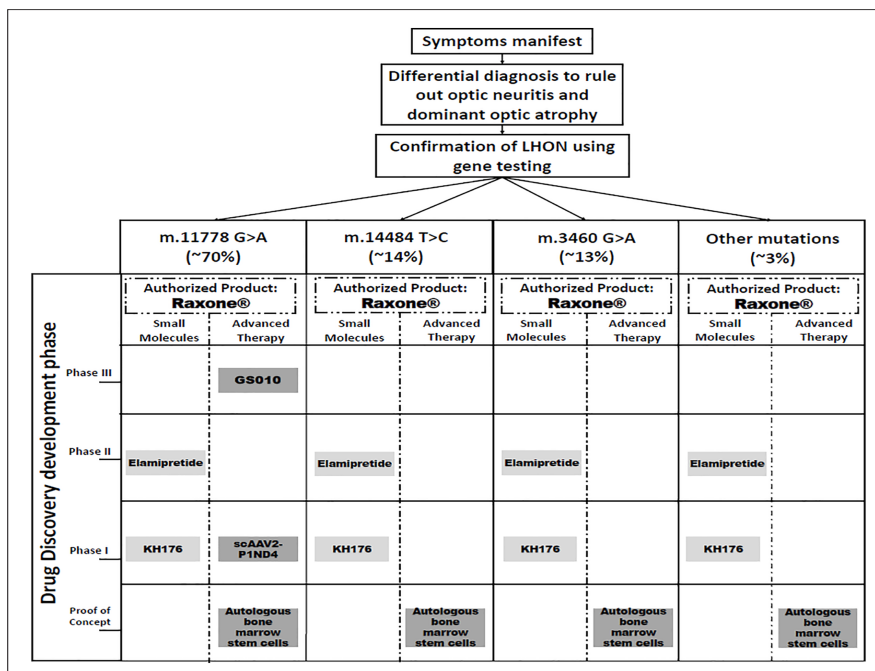
El primer fármaco aprobado para el tratamiento de la enfermedad de LHON fue la Idebenona, una ubiquinona de cadena corta cuyo mecanismo de acción se basa en la transferencia de electrones desde el complejo I hasta el complejo III. Puesto que en la enfermedad de Leber, las mutaciones afectan a diferentes subunidades de este complejo I, produciendo un defecto en la cadena de fosforilación oxidativa, este fármaco permite restituir el flujo de electrones y con ello, la consiguiente generación de ATP. Como consecuencia se produce la reducción en la producción de radicales libres y se devuelve la viabilidad a las células ganglionares de la retina que estaban inactivas. Previa a su aprobación en septiembre de 2015 por parte de la Unión Europea, se llevaron a cabo dos ensayos clínicos, randomizados, doble ciego y controlados por placebo. El primero de ellos, denominado RHODOS, no demostró resultados estadísticamente significativos a priori, pero sí al revisar los datos posteriormente. Tiempo más tarde se retomó el estudio, denominándose RHODOS-UFO, donde se demostró que el máximo beneficio lo obtenían los pacientes que presentaban una mayor discordancia en la agudeza visual entre ambos ojos y los que presentaban un mayor riesgo de pérdida de visión en el ojo menos afectado. Otro estudio llevado a cabo por Carelli puso de manifiesto que cuanto más temprana fuera la iniciación del tratamiento, mayor efecto se podía obtener, así también se establecieron como factores de mejor respuesta los siguientes: el inicio precoz de los síntomas, ser portador de la variante patogénica m.11778G>A y los tratamientos de larga duración <sup>25,27</sup>.

En la misma línea que la Idebedona se ha desarrollado otro fármaco conocido como EPI-743, un antioxidante denominado alfa-tocotrienol-quinona, derivado de la vitamina E <sup>17</sup>. Dicho fármaco presenta una estructura similar a la molécula original pero con un anillo de benceno que le concede

mayor eficiencia <sup>36</sup>. De hecho, en estudios *in vitro*, al compararlo con su análoga la Idebenona, has demostrado ser al menos 1000 veces más eficaz en la recuperación de la visión <sup>19</sup>. Su principio de acción consiste en interactuar con la enzima NADPH quinona reductasa para formar hidroquinonas estables, que poseen propiedades antioxidantes <sup>36</sup>. En resumen, su principal utilidad en la enfermedad de LHON viene determinada por su capacidad de reducir el estrés oxidativo al que se somete a la mitocondria <sup>19</sup>.

Por último, dentro de aquellos fármacos que se están investigando por su capacidad de mejorar la función de la cadena de fosforilación oxidativa, encontramos la molécula KH176. Dicho producto es un pequeño derivado de la vitamina E, que todavía se encuentra en ensayo clínico fase I. Se ha demostrado que a determinadas dosis es seguro, y actúa como agente modulador, dirigido frente a los ROS a nivel intracelular <sup>27</sup>.

Hasta ahora se han mencionado fármacos que por su acción antioxidante mejoraban el rendimiento de la cadena de fosforilación oxidativa. En un sentido completamente diferente, se ha intentado abordar la enfermedad desde el intento de inhibir la apoptosis de las células ganglionares de la retina. Para ello se ha desarrollado un producto farmacológico que es Elamipretide. Todavía se encuentra en Fase II de un ensayo clínico denominado ReSIGHT (2016). Resulta interesante conocer que se trata de un péptido dirigido a la mitocondria con alta afinidad por la cardiolipina. Esta última molécula se encarga de mantener la curvatura de las crestas mitocondriales y al sufrir un proceso de peroxidación en el que interviene el citocromo c, puede desencadenar la apoptosis de las células ganglionares. Elamipretide reduce los ROS, previene la actividad del citocromo peroxidasa y protege la arquitectura mitocondrial (Figura 5) <sup>27</sup>.





**Figura 6.** Representación de los diferentes tratamientos disponibles y en estudio para la enfermedad de LHON, en función de la mutación y la fase en la que se encuentren. Raxone corresponde al nombre comercial de Idebedone <sup>27</sup>.

En esta misma línea, a través de modelos animales se descubrió, que la Brimonidina, un agonista alfa-2 tópico, actuaba como antiapoptótico, protegiendo a las células implicadas. Sin embargo, al realizar el ensayo clínico en pacientes con pérdida de visión monocular por la enfermedad de LHON, se descubrió que no solo no frenaba la progresión de la enfermedad, sino que todos los pacientes desarrollaron precozmente la pérdida de visión en el segundo ojo. Por este motivo se paralizó el estudio. Sí que resulta importante conocerlo, puesto que los pacientes con enfermedad de Leber y además, Glaucoma, deben ser tratados con este, por los efectos negativos de la presión intraocular elevada sobre las células ganglionares <sup>24</sup>.

Existen otros tratamientos dirigidos a tratar la enfermedad de LHON, cuyo objetivo es corregir el problema fundamental, los genes. La terapia génica ya ha sido probada en 9 pacientes con la variante m.11778G>A, de los cuales 6 han mostrado una respuesta favorable <sup>36</sup>. El fundamento de este tratamiento es utilizar un vector, en concreto un adenovirus, que importe en el genoma nuclear el fragmento del gen, pero con el alelo sano. Así, la proteína ND4 será adecuadamente sintetizada junto a una cadena o secuencia dirigida mitocondrial, que le permitirá poder traspasar la barrera que supone una doble membrana mitocondrial y acceder a la matriz mitocondrial. A este proceso se le conoce con el nombre de expresión génica alogénica. El mecanismo para llevarlo a cabo es a través de una inyección intravítrea, ya que las células ganglionares de la retina, mediante este mecanismo, son fácilmente accesibles. Esta terapia ofrece una serie de resultados prometedores pero todavía hay que esperar a los resultados de estudios clínicos <sup>17,18,27</sup>.

En otra línea, las investigaciones también se han centrado en células madre como posible objetivo para el tratamiento de la enfermedad de LHON. Se han propuesto dos opciones sobre cómo utilizarlas y una de ellas es el trasplante de células ganglionares a partir de estas células madre. Sin embargo, resulta complicado que estas nuevas células establezcan las conexiones neuronales necesarias al integrarse en la retina. El otro motivo para utilizar células madre en la enfermedad de LHON es por su papel como liberadoras de factores neuroprotectores. Las células madre mesenquimales liberan factores neurotróficos protectores y también citoquinas antiinflamatorias. El objetivo de estos tratamientos, también aplicados mediante inyecciones intravítreas y basados en células madre mesenquimales o de médula ósea, es proteger a las células ganglionares de la retina de la apoptosis, preservando la visión del paciente <sup>24</sup>.

Otra de las hipótesis estudiadas para tratar de encontrar una estrategia terapéutica para esta enfermedad, es el papel que juegan los estrógenos en el desarrollo de la misma. Las diferencias en la penetrancia entre varones y mujeres sugieren un papel protector por parte de los estrógenos <sup>19</sup>. Se ha hipotetizado que los fitoestrógenos, al estimular al receptor B de estrógenos, podrían

tener un papel fundamental al aumentar la viabilidad de las células ganglionares de la retina pero se ha cuestionado su aplicación para retrasar el debut en portadores <sup>36</sup>.

Por último, es necesario mencionar la llamada teoría de estimulación de la Biogénesis Mitocondrial. Diferentes estudios sobre la enfermedad de Leber han constatado que la biogénesis aumentada de estos orgánulos, y por lo tanto un número alto de copias de ADNmt, se relaciona con los portadores asintomáticos que no concluyen el desarrollo de la enfermedad. De la misma manera, se ha observado un número disminuido de copias de ADNmt en los pacientes que desarrollan la enfermedad <sup>18,24</sup>. La biogénesis mitocondrial puede estimularse gracias a fármacos como por ejemplo fibratos, rosiglitazona o metformina, entre otros. La utilización de este tipo de fármacos, todavía en desarrollo, ayudaría a mejorar la función mitocondrial, y con ello la reversión del fenotipo patológico <sup>24</sup>.

### **5.7. Asesoramiento genético y opciones reproductivas en la enfermedad de LHON**

Concluimos el apartado de Resultados hablando de un punto clave para cualquier enfermedad hereditaria, el asesoramiento genético. En este apartado, el clínico, debe explicar la naturaleza, la herencia y las patologías asociadas al síndrome, para que así el paciente pueda tomar las mejores decisiones en su vida personal, de ahí su elevada importancia <sup>17</sup>.

Como bien sabemos, al tratarse de una enfermedad mitocondrial, los varones presentan riesgo nulo de transmitir la enfermedad a su descendencia, este hecho solo corresponde a la parte materna. Por otro lado, en el momento en el que nos encontremos con un paciente afectado de enfermedad de LHON será necesario estudiar a otros miembros de la familia, siguiendo el modelo de herencia de esta enfermedad <sup>20</sup>.

En primer lugar, nos encontraremos ante el dilema de si se trata de una mutación heredada por vía materna o bien, mucho menos frecuente, una mutación *de novo* <sup>20</sup>. Aproximadamente un 60% de los casos de enfermedad de LHON presentan historia familiar positiva, mientras que el 40% no. Ante este hecho, lo más habitual es que los pacientes desconozcan antecedentes médicos de sus familiares y la presencia de portadores asintomáticos dificulte la asociación familiar <sup>24</sup>. En este sentido, en un primer momento, se deberá realizar un estudio genético, dirigido a localizar la mutación del probando en la madre y así poder confirmar la transmisión materna y por lo tanto, descartar que se trate de una mutación *de novo* <sup>17</sup>. Con respecto a esto, la posibilidad de recurrencia, cuando se trata de una variante *de novo*, para los progenitores, es muy baja <sup>35</sup>.

Sobre riesgo de desarrollar la enfermedad, que pueden presentar los progenitores del probando, sabemos que el riesgo del padre será nulo, y la madre si presenta la variante patogénica, podrá o no desarrollar sintomatología, dada la penetrancia incompleta de la misma <sup>17</sup>.

En cuanto a la descendencia del probando, en caso de que este sea un varón, ninguno de sus hijos heredará la mutación; si es una mujer que presenta la variante patogénica, toda su descendencia

la heredará y podrá desarrollarla en el futuro. En este punto debemos hacer un inciso puesto que la variante patogénica, lo más habitual, es que se encuentre presente en homoplasmia, pero sin embargo, aunque muy poco frecuente, existe la posibilidad de que la madre posea la variante en heteroplasmia<sup>38</sup>. En estos casos, no se corresponde la cantidad de ADNmt mutado en sus ovocitos con la presente, por ejemplo, en las células ganglionares de la retina, con lo cual no permite predecir un riesgo. Además, la simple presentación de la variante no implica el desarrollo de la enfermedad, puesto que el futuro individuo puede permanecer como portador asintomático<sup>17</sup>.

Por todo ello, resulta complicado prevenir el riesgo de transmitir la enfermedad a la descendencia y supone uno de los principales problemas a la hora de llevar a cabo un completo asesoramiento genético. Los ovocitos de la mujer afectada, debido al fenómeno de segregación que ocurre en la división mitocondrial, reciben el ADNmt aleatoriamente. En este sentido pueden existir ovocitos cuyas mitocondrias posean el alelo sano en exclusiva; ovocitos que solo presenten en sus mitocondrias el alelo mutado en homoplasmia o bien encontrar de nuevo la mutación en heteroplasmia. La cantidad de ADNmt con la variante patogénica que una mujer con heteroplasmia puede transmitir, es impredecible, y además, los niveles de variación son elevados<sup>13,38</sup>. De hecho, debido a los sucesos que tienen lugar en el momento de la producción de los gametos femeninos, mujeres portadoras de la variante en heteroplasmia y que se encuentran asintomáticas, con cargas de mutación muy pequeñas, pueden producir ovocitos con altos niveles de ADNmt patológico<sup>40</sup>.

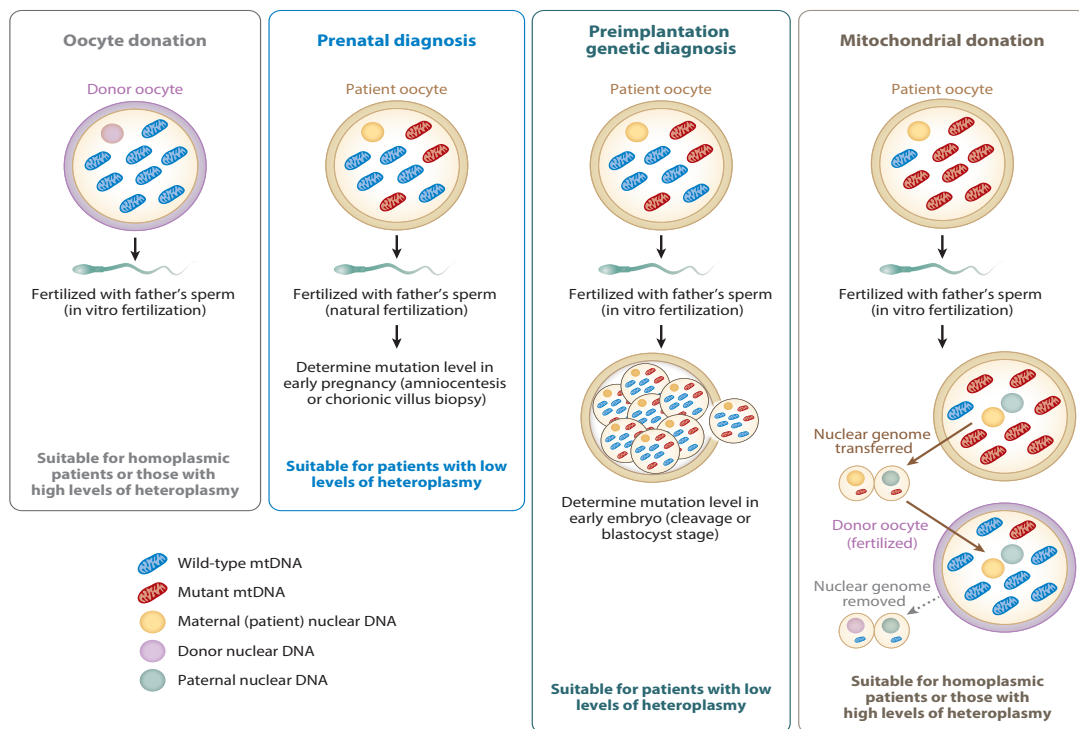
Por último, sobre la posibilidad de evitar la transmisión de la enfermedad por vía materna, se abre la puerta al diagnóstico prenatal, el diagnóstico preimplantación, la donación de ovocitos y la donación mitocondrial<sup>11</sup>. Las dos primeras resultan adecuadas para mujeres heteroplásmicas con bajos niveles de la variante. Sin embargo, las dos últimas ofrecen una alternativa para mujeres homoplásmicas o con elevados niveles de la variante en heteroplasmia (Figura 7)<sup>13</sup>.

El diagnóstico prenatal permite tomar muestras del embrión (biopsia corial o amniocentesis), en los estadios más tempranos del desarrollo, y comprobar si se ha transmitido o no la variante patogénica. Sin embargo, dicha técnica, no representa una solución como tal que corte la transmisión en el 100% de los casos<sup>11, 40</sup>.

El diagnóstico genético pre-implantación, es una técnica que utiliza la fecundación in vitro (FIV) y pretende asegurar que los niveles de la mutación en el futuro individuo sean lo suficientemente bajos como para no causar enfermedad, en caso de que los haya. Se utilizan células de varios embriones en un estadio muy precoz, y se seleccionan aquellas que se encuentran sanas o con una carga de mutación muy baja. Con respecto a esta técnica, resulta importante saber que la muestra debe ser representativa del embrión en conjunto, y para ello se requiere una segregación uniforme de la variante patogénica durante el desarrollo pre-implantación del embrión. Al igual que la anterior, tampoco permite reducir el riesgo a 0<sup>40</sup>.

La donación de ovocitos permite reducir a riesgo completamente para los progenitores de tener un hijo afectado, dado que no interviene el ADNmt materno, pero no permite tener un hijo biológico, por lo que para muchas parejas no es la mejor solución <sup>13</sup>.

Como opción realmente eficaz y útil para mujeres homoplásmicas y aquellas con elevados niveles de heteroplasmia, podemos hablar de la Transferencia nuclear, de nuevo una técnica basada también en la FIV, donde se utilizan tres células diferentes para dar lugar al nuevo ser: el ADNn del ovocito materno, un ovocito enucleado de una donante que aporta el ADNmt y el ADNn paterno. Resulta obvio, que para poder llevar a cabo este procedimiento con seguridad, la mujer donante de mitocondrias debe presentar un ADNmt sin variantes patogénicas. Por otra parte, se han estudiado los posibles inconvenientes que pueden surgir de la coexistencia de dos materiales genéticos de origen diferente en un mismo individuo. Existen multitud de técnicas que permiten la transferencia del material nuclear materno, desde ovocitos, e incluso desde cigotos. Esta técnica, conocida como Donación Mitocondrial, fue llevada por primera vez a cabo en humanos en 2016, y aprobada por Reino Unido en 2015 <sup>40</sup>.



**Figura 7.** Técnicas de reproducción para evitar el desarrollo de la enfermedad de LHON. De derecha a izquierda: donación de óvulos, diagnóstico prenatal, diagnóstico genético preimplantación y donación mitocondrial con sus respectivos procedimientos.

## 6. CONCLUSIONES

- Las Enfermedades Mitocondriales representan síndromes complejos, que en la mayoría de casos producen una afectación multisistémica, ocasionando clínica de gravedad. La enfermedad de LHON supone una excepción dentro de estas al afectarse en la mayoría de casos solamente la visión.
- Las variantes patogénicas que causan la enfermedad de LHON son tres principalmente: m. 3460G>A, m. 11778G>A y m.14484T>C. Ambas tres son mutaciones mutuales que afectan al complejo I del sistema OXPHOS, en concreto a las subunidades ND1, ND4 y ND6 respectivamente. Producen alteraciones en la cadena de fosforilación oxidativa, impidiendo la transferencia de electrones, ocasionando un déficit de ATP.
- Se manifiesta de forma aguda o subaguda, indolora, con una pérdida de la visión central y alteraciones en la visión de los colores. Suele ser unilateral en un inicio pero en un corto periodo de tiempo afectar al ojo controlateral, causando una grave incapacidad visual. En ocasiones se asocia a trastornos de la conducción cardíaca y otros síntomas neurológicos.
- En el diagnóstico es imprescindible una correcta historia clínica, que recoja detalladamente los antecedentes familiares. La exploración física debe ser exhaustiva y descartar otras causas de neuropatía. Por último, la confirmación del diagnóstico se lleva a cabo gracias a test genéticos.
- Cuenta con un tratamiento denominado Idebenone, específico y dirigido para la enfermedad, además de múltiples terapias en desarrollo.
- El asesoramiento genético permite informar a los pacientes sobre la transmisión de su enfermedad y la posibilidad de más miembros en la familia afectados. Los varones nunca la transmiten, mientras que las mujeres homoplásmicas para la variante la transmitirán a toda la descendencia. Las mujeres que presentan las variantes en heteroplasmia suponen un desafío a la hora de predecir el riesgo de transmisión.
- A pesar de las múltiples técnicas de reproducción asistida conocidas hasta la fecha, la única que permite evitar el riesgo de transmisión de las enfermedades mitocondriales es la Transferencia Nuclear, aprobada solo en algunos países.

## 7. **BIBLIOGRAFÍA**

1. Greaves LC, Reeve AK, Taylor RW, Turnbull DM. Mitochondrial DNA and disease. *J Pathol*. 2012; 226: 274-86. doi: 10.1002/path.3028
2. Yan C, Duanmu X, Zeng L, Liu B, Song Z. Mitochondrial DNA: Distribution, Mutations, and Elimination. *Cells*. 2019 Apr 25; 8 (4): 379. doi: 10.3390/cells8040379
3. Basu U, Bostwick AM, Das K, Dittenhafer-Reed KE, Patel SS. Structure, mechanism, and regulation of mitochondrial DNA transcription initiation. *J Biol Chem*. 2020 Dec 25;295(52):18406-25. doi: 10.1074/jbc.
4. Montoya J, Emperador S, López-Gallardo E, Ruiz-Pesini E. Diagnóstico genético de enfermedades metabólicas producidas por alteración del DNA mitocondrial. En: Sanjurjo P, Baldellou A, editores. Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditarias. 4ª ed. Madrid: Ergon; 2014. p. 773-790.
5. Alston CL, Rocha MC, Lax NZ, Turnbull DM, Taylor RW. The genetics and pathology of mitochondrial disease. *J Pathol*. 2017;241(2):236-50.
6. Lazcano A, Peretó J. On the origin of mitosing cells: A historical appraisal of Lynn Margulis endosymbiotic theory. *J Theor Biol*. 2017;434:80-7. doi: 10.1016/j.jtbi.2017.06.036.
7. Martin WF, Garg S, Zimorski V. Endosymbiotic theories for eukaryote origin. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2015 Sep 26;370(1678):20140330. doi: 10.1098/rstb.2014.0330.
8. Falkenberg M. Mitochondrial DNA replication in mammalian cells: Overview of the pathway. *Essays Biochem*. 2018 Jul 20; 62(3): 287-96. doi: 10.1042/EBC20170100.
9. Sharma N, Pasala MS, Prakash A. Mitochondrial DNA: Epigenetics and environment. *Environ Mol Mutagen*. 2019 Oct; 60(8): 668-82. doi: 10.1002/em.22319.
10. Hillen HS, Temiakov D, Cramer P. Structural basis of mitochondrial transcription. *Nat Struct Mol Biol*. 2018 Sep;25(9):754-765. doi: 10.1038/s41594-018-0122-9.
11. Boggan RM, Lim A, Taylor RW, McFarland R, Pickett SJ. Resolving complexity in mitochondrial disease: Towards precision medicine. *Mol Genet Metab*. 2019 Sep-Oct; 128(1-2):19-29. doi: 10.1016/j.ymgme.2019.09.003.
12. López-Pérez MJ, Montoya J. Sistema genético mitocondrial humano. Sist mitocondrial un reto en la Med humana. 2012;31-46.
13. Craven L, Alston CL, Taylor RW, Turnbull DM. Recent Advances in Mitochondrial Disease. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2017 Aug 31;18:257-75. doi: 10.1146/annurev-genom-091416-035426.
14. Ng YS, Turnbull DM. Mitochondrial disease: genetics and management. *J Neurol*. 2016;263(1):179-91.
15. Karaarslan C. Leber's Hereditary Optic Neuropathy as a Promising Disease for Gene Therapy Development. *Adv Ther [Internet]*. 2019 Dec;36(12):3299-3307. doi: 10.1007/s12325-019-01113-2.

16. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Variación genética en los individuos y las poblaciones: Mutación y polimorfismo. Thompson & Thompson. *Genética en medicina*. 7ª ed. Barcelona: Masson; 2008. p. 175-204.
17. Yu-Wai-Man P, Chinnery PF. Leber Hereditary Optic Neuropathy. 2000 Oct 26 [actualizado 2021 Mar 11]. En: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Mirzaa G, Amemiya A, editors. *GeneReviews* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; p. 1993–2021..
18. Jurkute N, Yu-Wai-Man P. Leber hereditary optic neuropathy: Bridging the translational gap. *Curr Opin Ophthalmol*. 2017 Sep; 28 (5): 403-9.
19. Manickam A, Michael M, Ramasamy S. Mitochondrial genetics and therapeutic overview of Leber's hereditary optic neuropathy. *Indian J Ophthalmol*. 2017 Nov;65(11):1087-1092. doi: 10.4103/ijoo.IJO\_358\_17. PMID: 29133631
20. Man PYW, Turnbull DM, Chinnery PF. Leber hereditary optic neuropathy. *J Med Genet*. 2002 Mar;39(3):162-9. doi: 10.1136/jmg.39.3.162.
21. Piotrowska-Nowak A, Krawczyński MR, Kosior-Jarecka E, Ambroziak AM, Korwin M, Oldak M, et al. Mitochondrial genome variation in male LHON patients with the m.11778G > A mutation. *Metab Brain Dis*. 2020;35(8):1317-27.
22. Ma E, Sadún A. Leber hereditary optic neuropathy [Internet]. *Enciclopedia Orphanet*. 2021 Mar. Recuperado a partir de: [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease\\_Search.php?lng=EN&data\\_id=167](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=167)
23. Ueda K, Morizane Y, Shiraga F, Shikishima K, Ishikawa H, Wakakura M, et al. Nationwide epidemiological survey of Leber hereditary optic neuropathy in Japan. *J Epidemiol*. 2017;27(9):447-50.
24. Meyerson C, Van Stavern G, McClelland C. Leber hereditary optic neuropathy: Current perspectives. *Clin Ophthalmol*. 2015 Jun 26;9:1165-76. doi: 10.2147/OPHTH.S62021.
25. Lyseng-Williamson KA. Idebenone: A Review in Leber's Hereditary Optic Neuropathy. *Drugs*. 2016 May;76(7):805-13.
26. Fernandez-Vizarra E, Zeviani M. Mitochondrial disorders of the OXPHOS system. *FEBS Lett*. 2021 Apr;595(8):1062-106. doi: 10.1002/1873-3468.13995.
27. Zuccarelli M, Vella-Szija J, Serracino-Inglott A, Borg JJ. Treatment of Leber's hereditary optic neuropathy: An overview of recent developments. *Eur J Ophthalmol*. 2020;30(6):1220-7.
28. Barreda Gago D, Gómez Ledesma I, Santiago Rodríguez M de los Á, Hernández Galilea E. Neuropatía óptica hereditaria de Leber por mutación G11778A del ADN mitocondrial. Manejo de un caso. *Rev Mex Oftalmol*. 2016 Nov 1;90(6):295-9.
29. Yu-Wai-Man P, Griffiths PG, Chinnery PF. Mitochondrial optic neuropathies - Disease mechanisms and therapeutic strategies. *Prog Retin Eye Res*. 2011;30(2):81-114.
30. Borrelli E, Balasubramanian S, Triolo G, Barboni P, Sadda SVR, Sadun AA. Topographic Macular Microvascular Changes and Correlation With Visual Loss in Chronic Leber Hereditary Optic Neuropathy. *Am J Ophthalmol* [Internet]. 2018;192:217-28. doi: 10.1016/j.ajo.2018.05.029

31. Wang D, Liu H-L, Du YY, Yuan J, Li X, Tian Z, et al. Characterisation of thickness changes in the peripapillary retinal nerve fibre layer in patients with Leber's hereditary optic neuropathy. *Br J Ophthalmol*. 2020. doi: 10.1136/bjophthalmol-2020-316573.
32. Priglinger C, Klopstock T, Rudolph G, Priglinger SG. Leber'sche hereditäre Optikusneuropathie [Leber's Hereditary Optic Neuropathy]. *Klin Monbl Augenheilkd*. 2019 Nov;236(11):1271-1282. German. doi: 10.1055/a-0972-1552.
33. Bargiela D, Chinnery PF. Mitochondria in neuroinflammation – Multiple sclerosis (MS), leber hereditary optic neuropathy (LHON) and LHON-MS. *Neurosci Lett*. 2019 Sep 25;710:132932. doi: 10.1016/j.neulet.2017.06.051.
34. Pfeffer G, Burke A, Yu-Wai-Man P, Compston DA, Chinnery PF. Clinical features of MS associated with Leber hereditary optic neuropathy mtDNA mutations. *Neurology*. 2013 Dec 10;81(24):2073-81. doi: 10.1212/01.wnl.0000437308.22603.43
35. Chinnery PF. Mitochondrial Disorders Overview. 2000 Jun 8 [updated 2014 Aug 14]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Mirzaa G, Amemiya A, editors. *GeneReviews* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2021.
36. Theodorou-Kanakari A, Karampitanis S, Karageorgou V, Kampourelli E, Kapasakis E, Theodossiadis P, et al. Current and Emerging Treatment Modalities for Leber's Hereditary Optic Neuropathy: A Review of the Literature. *Adv Ther* [Internet]. 2018 Oct;35(10):1510-8. doi: 10.1007/s12325-018-0776-z.
37. Lazdinyte S, Schorderet DF, Valmaggia C, Todorova MG, Bern IU, Hospital C. Analysis of Inherited Optic Neuropathies. *Klin Monbl Augenheilkd*. 2019 Apr;236(4):451-461. English. doi: 10.1055/a-0829-6828.
38. Huoponen K, Puomila A, Savontaus ML, Mustonen E, Kronqvist E, Nikoskelainen E. Genetic counseling in Leber hereditary optic neuropathy (LHON). *Acta Ophthalmol Scand*. 2002 Feb;80(1):38-43.
39. Pilz YL, Bass SJ, Sherman J. Revisión de las neuropatías ópticas mitocondriales: de las formas hereditarias a las adquiridas. *J Optom* [Internet]. 2017;10(4):205-14. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.optom.2016.09.003>
40. Craven L, Tang MX, Gorman GS, De Sutter P, Heindryckx B. Novel reproductive technologies to prevent mitochondrial disease. *Hum Reprod Update*. 2017;23(5):501-19.