



FACULTAD DE FARMACIA

**BASES MOLECULARES DE LA
NEUROPATÍA ÓPTICA HEREDITARIA
DE LEBER**

María Teresa Márquez Quidiello



FACULTAD DE FARMACIA

TRABAJO DE FIN DE GRADO

Grado en Farmacia

BASES MOLECULARES DE LA NEUROPATÍA ÓPTICA HEREDITARIA DE LEBER

María Teresa Márquez Quidiello

Lugar y fecha de presentación: Sevilla, Julio de 2016

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular

Tutor: Prof. Dr. Antonio José Herrera Carmona

Trabajo bibliográfico

RESUMEN

La neuropatía óptica hereditaria de Leber (NOHL) se encuentra entre las neuropatías heredadas de forma materna más comunes y fue la primera enfermedad mitocondrial descrita, causando una pérdida de visión bilateral con mayor prevalencia en los varones. La enfermedad es resultado de mutaciones en el ADN mitocondrial que conducen a una disfunción en el orgánulo, afectando así a la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa. Principalmente se ven afectadas las células ganglionares de la retina, produciendo la manifestación característica de pérdida de la visión, aunque algunas mutaciones menos frecuentes también pueden afectar a otros tejidos y como consecuencia mostrar otras manifestaciones además de la visual. Aun así, existen otros factores que modulan la pérdida de visión y su penetrancia según el sexo y las familias, tales como el estrés oxidativo, factores genéticos, factores hormonales y otros factores medioambientales que se ha visto que guardan relación con la mayor probabilidad de que un paciente manifieste la enfermedad, así como que algunos puedan presentar mayor recuperación de la visión después de la aparición de la enfermedad. La mayor preocupación actual es la búsqueda de los factores determinantes que producen la pérdida de la visión, a pesar de conocerse que las mutaciones en el ADN mitocondrial son una condición necesaria para la misma. Se están investigando nuevas terapias y tratamientos para curar la enfermedad una vez que ha aparecido así como para evitar el comienzo de la pérdida de visión inicial. Actualmente, los tratamientos más utilizados intentan ayudar a los pacientes que han quedado con la visión reducida, sin haberse conseguido eficazmente aumentar su visión ni una recuperación parcial. Se están llevando a cabo nuevas líneas de investigación encaminadas a frenar el inicio de la enfermedad, porque parecen ser más efectivas que las dirigidas a recuperar la visión una vez ha aparecido la manifestación inicial.

Palabras Clave: Enfermedades mitocondriales, haplogrupos, neuropatía óptica hereditaria de Leber, NOHL.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	6
2. OBJETIVOS DE LA REVISIÓN	6
3. METODOLOGÍA	6
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	7
4.1 La Neuropatía Óptica Hereditaria de Leber	7
4.1.1. Historia de la enfermedad	7
4.1.2. ¿Por qué hay una pérdida de la visión? Vulnerabilidad del nervio óptico	7
4.1.3. Manifestación de la enfermedad y prevalencia	9
4.1.4. NOHL “plus”	10
4.1.5. NOHL: una enfermedad mitocondrial	10
4.2. Alteraciones mitocondriales en la NOHL	11
4.2.1. Relación de la NOHL con la función mitocondrial y la fosforilación oxidativa	11
4.2.2. Alteraciones en el complejo I de la cadena respiratoria	13
4.2.3. Mutaciones en el ADN mitocondrial que producen NOHL	14
4.2.4. Haplogrupos	19
4.3. Penetrancia incompleta en NOHL. Otros factores	21
4.3.1. Factores genéticos nucleares y factores hormonales	22
4.3.2. Estrés oxidativo y apoptosis	23
4.3.3. Factores ambientales	24
4.4. Perspectivas futuras de estudio y tratamiento en la NOHL	24
5. CONCLUSIONES	26
6. BIBLIOGRAFÍA	28

ABREVIATURAS

AAV: virus adeno asociado

ADNmt: ADN mitocondrial

ASANOL: asociación atrofia nervio óptico de Leber

CoQ: ubiquinona

CuZnSOD: superóxido dismutasa dependiente de cobre y cinc

ERGs: electrorretinogramas

FMN: flavín mononucleótido

GPX: glutatión peroxidasa

GR: glutatión reductasa

MELAS: síndrome de miopatía, encefalopatía, acidosis láctica y episodios semejantes a apoplejías

MERFF: epilepsia mioclónica asociada a fibras rojas rotas

MnSOD: superóxido dismutasa dependiente de manganeso

MT-CO: citocromo c oxidasa

NOHL: neuropatía óptica hereditaria de Leber

OCT: tomografía de coherencia óptica

OXPPOS: fosforilación oxidativa

³¹P-MRS: resonancia magnética con fósforo-31

PPAR: receptor activado por el factor proliferador de peroxisomas

RGCs: células ganglionares de la retina

RNFL: capa de fibras nerviosas de la retina

ROS: especies reactivas de oxígeno

SOD2: superóxido dismutasa 2

VEPs: Potenciales visuales evocados

1. INTRODUCCIÓN

Esta revisión acerca de la neuropatía óptica hereditaria de Leber (NOHL) ha sido consecuencia de un interés personal por parte de la alumna. La NOHL está incluida en el catálogo de enfermedades raras que se extienden en muchos países, y en especial en España. En nuestro país se ha creado ya una asociación de afectados e interesados en esta patología, llamada ASANOL (Asociación Atrofia Nervio Óptico de Leber, <http://asanol.blogspot.com.es/>) que, desde hace varios años, organiza diferentes conferencias y congresos relacionados con la enfermedad, la última el 3 de Octubre de 2015 en Barcelona, a la que acudieron los principales especialistas a nivel nacional e internacional sobre esta enfermedad, así como representantes de otras asociaciones internacionales. Todo ello da muestra, por un lado, de la enorme actualidad de este tema, y por otro del creciente interés en el estudio de esta enfermedad.

Tras acudir en Sevilla a una de las primeras conferencias organizadas, cuyos conferenciantes fueron el profesor Valentino Carelli y la doctora Chiara la Morgia, que se citan en este trabajo, la alumna sintió un fuerte interés por la base molecular de la enfermedad y todas las posibles hipótesis relacionadas con la manifestación de la misma, lo que motivó su interés por desarrollar este trabajo ya que, además, tiene casos cercanos de personas que padecen esta neuropatía.

2. OBJETIVOS DE LA REVISIÓN

En este trabajo de fin de grado se intentará describir lo conocido hasta ahora acerca de la neuropatía óptica hereditaria de Leber, en términos de las bases moleculares y genéticas de la enfermedad y lo hasta ahora conocido del porqué de su manifestación.

3. METODOLOGÍA

La metodología seguida en la búsqueda de información ha sido buscar trabajos relacionados con la enfermedad en cuestión, utilizando palabras clave como LHON, molecular basis of LHON, haplogroups, mitochondrial disease y LHON perspectives, haciendo búsquedas bibliográficas en PubMed y otras páginas web de interés. Respecto a los criterios de selección, se han escogido los artículos y las revisiones más recientes sobre la enfermedad, así como algunos de los primeros trabajos publicados que son referencias clásicas. En dicha selección se ha tenido en cuenta el índice de impacto y el prestigio internacional de las revistas correspondientes, así como los autores más relevantes en el campo, mediante las herramientas y bases de datos de la Web of Science.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. LA NEUROPATÍA ÓPTICA HEREDITARIA DE LEBER

4.1.1. Historia de la enfermedad

La neuropatía óptica hereditaria de Leber (NOHL; en inglés, Leber hereditary optic neuropathy, LHON) es considerada un prototipo de enfermedad mitocondrial (Meyerson y cols., 2015). Esta enfermedad fue reconocida por primera vez por el doctor Albrecht von Graefe en 1858, pero fue posteriormente renombrada en honor del doctor Theodore Leber, quien describió a 15 pacientes con dicha enfermedad pertenecientes a cuatro familias (Leber, 1871). La enfermedad consiste en una pérdida de la visión bilateral que afecta fundamentalmente a los varones al principio de la adolescencia.

4.1.2. ¿Por qué hay una pérdida de visión? Vulnerabilidad del nervio óptico.

La pérdida de visión en la NOHL resulta de una degeneración selectiva de las células ganglionares de la retina (RGCs, del inglés retinal ganglion cells), las cuales son altamente sensibles a las disfunciones mitocondriales y los daños metabólicos. La severa deficiencia visual se debe a la muerte de las RGCs y a la atrofia con desmielinización del nervio óptico (Carelli y cols., 2004).

El conjunto papilomacular de las RGCs responsable de la visión central es afectado primero y más severamente como consecuencia de sus fibras de pequeño diámetro y gran dependencia de la mitocondria (Meyerson y cols., 2015). Las RGCs residen en la capa de la retina que proyectan axones (Figura 1). Los axones de las RGCs del interior de la retina se reúnen para convertirse en el nervio óptico, una estructura sin vaina de mielina antes de pasar a través de la lámina cribosa, y que posteriormente está fuertemente mielinizada. Los axones pre-laminares son altamente dependientes de la fosforilación oxidativa (OXPHOS), probablemente debido al alto coste energético necesario para la transmisión de señales y para sostener el potencial eléctrico, mientras que los axones post-laminares mielinizados tienen un menor coste energético gracias a la conducción saltatoria, exceptuando el nódulo de Ranvier, el cual es rico en mitocondrias. Esta distribución asimétrica de mitocondrias y de demanda de energía probablemente explica la particular vulnerabilidad de las RGCs y sus axones desmielinizados hacia las mutaciones en genes del complejo I (Carelli y cols., 2004).

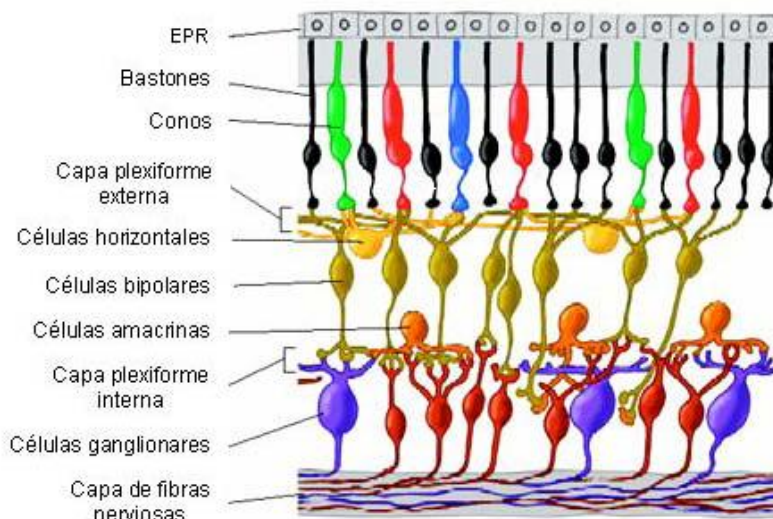


Figura 1. Estructura por capas de la retina, desde la zona más próxima a la entrada de luz (la capa de fibras nerviosas) hasta la capa más alejada (el epitelio pigmentado retinal, EPR).

Al examinar el fondo del ojo antes o durante la fase aguda de la pérdida de visión, la enfermedad se caracteriza por una fase pre-sintomática con cambios típicos en el fondo del ojo incluyendo hiperemia del disco óptico, microangiopatía telangiectásica circumpapilar, tortuosidad vascular, e inflamación dentro de la capa de fibras nerviosas de la retina (RNFL, del inglés retinal nerve fiber layer) alrededor del disco óptico pero sin el correspondiente derrame (pseudooedema). Con el tiempo, estos cambios se resuelven con el progreso de la enfermedad (Meyerson y cols., 2015). La transformación de la fase aguda se define por una disminución de la agudeza visual que rápidamente empeora en pocos meses. Un escotoma central dura alrededor de pocos meses, alcanzando normalmente un defecto estable y profundo en un año, entrando en la fase crónica. La mayoría de los avances para entender la NOHL han sido posibles después de la introducción de la tomografía de coherencia óptica (OCT, del inglés optical coherence tomography). En la fase aguda, la RNFL se engrosa primero en los cuadrantes temporal e inferior (muestran una rápida inflamación), mientras que los cuadrantes superior y nasal se ven afectados después y revelan su máximo grosor 3 meses después del inicio de la enfermedad (Figura 2), cuando el conjunto papilomacular está completamente atrofiado (Balducci y cols., 2015). Durante la fase crónica la RNFL se hace más fina en los meses siguientes al inicio de la pérdida de visión. Los potenciales visuales evocados (VEPs, del inglés visual evoked potentials) y los electroretinogramas (ERGs, del inglés electroretinograms) son a menudo anormales en los pacientes afectados por la NOHL, como consecuencia de la degeneración de las fibras del nervio óptico y la pérdida de RGC, respectivamente (Meyerson y cols., 2015).

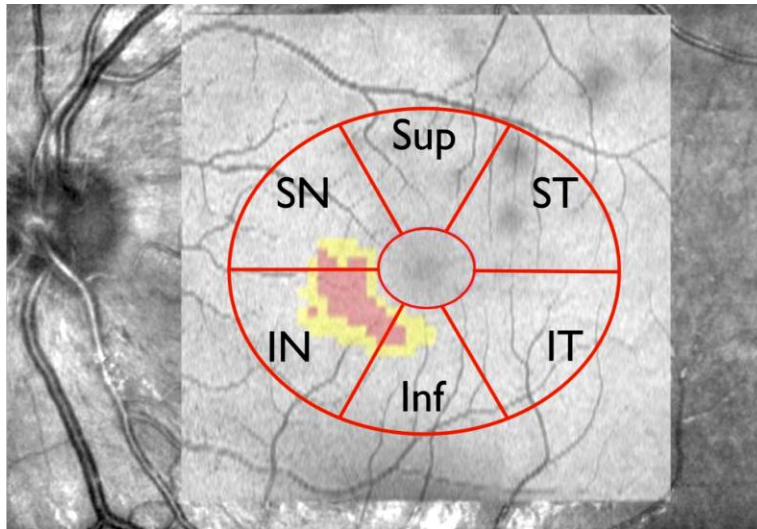


Figura 2. Mapa sectorial en superposición de un mapa de desviación en un paciente con NOHL, analizado 6 semanas antes del inicio de la pérdida de visión. El mapa de desviación detecta un defecto localizado en el interior del anillo del sector inferior-nasal (IN: inferior-nasal, Inf: inferior, IT: inferior-temporal, SN: superior-nasal, Sup: superior, ST: superior-temporal) (Balducci y cols., 2015)

4.1.3. Manifestación de la enfermedad y prevalencia.

La NOHL afecta típicamente a varones adultos jóvenes, caracterizada por una pérdida aguda o subaguda de la visión central unilateral y posteriormente bilateral que cursa sin dolor, produciendo la atrofia del nervio óptico. La pérdida de visión comienza normalmente con un defecto en la visión de los colores y con un escotoma central en el campo de visión (Maresca y cols., 2013). El curso clínico típico supone una pérdida rápida de agudeza visual en pocas semanas (desde uno a seis meses) y su posterior estabilización, entrando en la fase crónica. La pérdida de visión puede ser muy severa, incluso con ceguera en algunos casos (Carelli y cols., 2004). En la fase aguda hay una pérdida de visión bilateral secuencial, una deficiencia significativa en la visión de los colores y, generalmente, el mantenimiento del reflejo pupilar (La Morgia y cols., 2014).

La prevalencia mínima de pérdida de visión asignada a la NOHL está cifrada en 1 de cada 31.000 personas en el norte del Reino Unido (Yu-Wai-Man y cols., 2003). Otros estudios epidemiológicos indican una prevalencia de 1 entre 39.000 y 1 entre 50.000 en Holanda y Finlandia, respectivamente (Puomila y cols., 2007; Spruijt y cols., 2006). La NOHL afecta predominantemente a los varones (en un 80-90% de los casos) (Newman, 2005). El desarrollo de los síntomas ocurre típicamente en la segunda y tercera décadas de la vida; raramente se han descrito pérdidas de visión después de 50 años de edad, pero hay que mencionar que se han descrito manifestaciones del desarrollo de NOHL desde los 2 hasta los 87 años de edad

(Giraudet y cols., 2011; Newman, 2005; Yu-Wai-Man y cols., 2009). La mayoría de los pacientes de NOHL pertenecen a familias con árboles genealógicos con pérdida de visión debida a esta enfermedad, aunque un 40% carecen de historial conocido de la enfermedad. Dado que las mutaciones *de novo* son raras, este porcentaje relativamente alto podría ser atribuible a portadores que no manifestaron pérdida de visión o a la imposibilidad real de trazar la historia familiar en muchos casos (Biousse y cols., 1997; Yu-Wai-Man y cols., 2003).

4.1.4. NOHL “plus”

Mientras que la manifestación característica de la NOHL es la pérdida de la visión, se han descrito otras manifestaciones, como defectos en la conducción cardíaca (arritmias cardíacas), anormalidades neurológicas como la ataxia, neuropatías periféricas, miopatías y distonía. Algunas familias de Holanda, Australia y América del Norte tienen manifestaciones particularmente severas que incluyen ataxia, desarrollo de encefalopatías juveniles, distonía espástica y perturbaciones psiquiátricas. Otro caso, descrito en 1992 (Harding y cols., 1992), hipotetiza que la pérdida de la visión en la NOHL puede ser causada por una respuesta inmune anormal contra el nervio óptico, que en algunas mujeres podría involucrar a otros axones mielinizados y como resultado padecer esclerosis múltiple. Todos estos fenotipos han sido denominados como síndromes "LHON plus" y han sido conectados con otros puntos de mutación del ADN mitocondrial (ADNmt) que afectan a la actividad del complejo I, pero que difieren de los tres puntos comunes en la NOHL (Meyerson y cols., 2015).

4.1.5. NOHL: una enfermedad mitocondrial

Todos los estudios sobre transmisión hereditaria de la NOHL han mostrado que esta enfermedad se transmite mediante herencia materna asociada a la transmisión del ADNmt, lo que está en concordancia también con los defectos anteriormente comentados sobre la disfunción mitocondrial observada en las RGCs y otras células nerviosas.

La transmisión del genoma mitocondrial ocurre siempre mediante herencia materna, esto es desde la madre a su progenie, a partir de las mitocondrias existentes en el óvulo. No existe contribución posible del varón, ya que las pocas mitocondrias presentes en las células espermáticas son degradadas proteolíticamente por el cigoto, de ahí que esta enfermedad no la puedan transmitir los varones, sino sólo las mujeres. El ADNmt se replica de manera continua e independiente del ADN nuclear. A menudo existen varios miles de moléculas de ADNmt presentes cuyas copias son todas idénticas, lo que se denomina homoplasmia. Sin embargo, una determinada mutación puede ocurrir en una de dichas copias del ADNmt originando la coexistencia de ADNmt silvestre y mutado dentro de una determinada

mitocondria, lo que se conoce como heteroplasmia (Zeviani y Di Donato, 2004). Cuando una célula se divide y las mitocondrias se reparten entre las células hijas, la heteroplasmia implica que el ADNmt mutado y silvestre de las células hijas está sometido a una segregación al azar, y por consiguiente desigual. De esta manera, puede ocurrir que dos o más variantes de ADNmt estén presentes, y esta genética mixta está implicada en la variación de la expresión de la enfermedad y caracteriza a las enfermedades mitocondriales. Por tanto, el resultado de la heteroplasmia y la segregación del ADNmt contribuyen a la posible heterogeneidad en la transmisión de las enfermedades asociadas al ADNmt, incluso entre individuos emparentados (Meyerson y cols., 2015). Por otra parte, en el caso de la heteroplasmia una cierta cantidad de ADNmt silvestre puede compensar al ADNmt mutado en una determinada célula o tejido, si bien suele ocurrir que dicha compensación no tenga lugar a partir de un determinado nivel de ADNmt mutado (el nivel de especies mutantes es del 60-80%). Esto es lo que se denomina el posible *nivel crítico* de una determinada mutación mitocondrial, que es con frecuencia específica para ciertos tejidos. Algunos tejidos metabólicamente muy activos, como los que contienen a las RGCs, que constituyen el nervio óptico y las células del epitelio pigmentado de la retina, tienen un *nivel crítico* menor que otros tejidos metabólicamente menos activos (Jenuth y cols., 1997). Así mismo, las células post-mitóticas tales como las neuronas acumulan más copias del ADNmt mutado con el tiempo, lo que puede originar que finalmente pueda alcanzarse el *nivel crítico*, justificando así una manifestación variable con la edad de muchas enfermedades mitocondriales (McFarland y Turnbull, 2009).

Se han descrito más de 200 mutaciones puntuales en el ADNmt que pueden dar lugar a enfermedades mitocondriales; la mayoría de estas mutaciones son heteroplásmicas. Existen algunas excepciones a esta regla, aumentando el reconocimiento de la importancia de las mutaciones homoplásmicas en las patologías mitocondriales.

4.2. ALTERACIONES MITOCONDRIALES EN LA NOHL

4.2.1. Relación de la NOHL con la función mitocondrial y la fosforilación oxidativa

Las mitocondrias son orgánulos celulares que poseen su propio material genético en forma de ADN circular de doble hélice con alrededor de 16.569 pares de base. Estos orgánulos desarrollan un papel fundamental en la síntesis de ATP en las células eucarióticas, utilizado posteriormente en los procesos fisiológicos celulares que requieren energía. El número de mitocondrias presentes en un determinado tipo celular depende de la demanda energética de las células. Las células de tejidos metabólicamente muy activos, incluyendo las RGCs del conjunto papilomacular, el corazón, el páncreas, los riñones, el hígado y los músculos, suelen

tener un requerimiento alto de ATP y un número alto de mitocondrias, de ahí que las enfermedades mitocondriales, como es el caso de la NOHL, afecten fundamentalmente a estos tejidos ya que son más sensibles a una menor producción de ATP (Zeviani y Di Donato, 2004). Precisamente en las mitocondrias es donde tiene lugar la síntesis de ATP mediante la OXPHOS, merced al flujo de electrones a través de la cadena respiratoria. La cadena respiratoria está formada por cuatro complejos (I-IV) ubicados en la membrana interna de la mitocondria y que participan secuencialmente para transferir electrones procedentes del NADH y el FADH₂ generados en los procesos catabólicos de la célula, lo que va acompañado de un bombeo de protones desde la matriz mitocondrial al espacio intermembrana, generando así un gradiente electroquímico de protones que al circular a través de otro complejo proteico denominado ATP sintasa (complejo V), posibilita la producción de ATP desde el ADP y fosfato inorgánico. Varios componentes adicionales como la ubiquinona (CoQ) y el citocromo c participan también como mediadores en el transporte de electrones de la cadena respiratoria (Figura 3). La CoQ es una molécula liposoluble presente en una alta concentración en el interior de la membrana mitocondrial, y tiene un papel único en OXPHOS como el único transportador de electrones eficiente desde el complejo I y complejo II al complejo III.

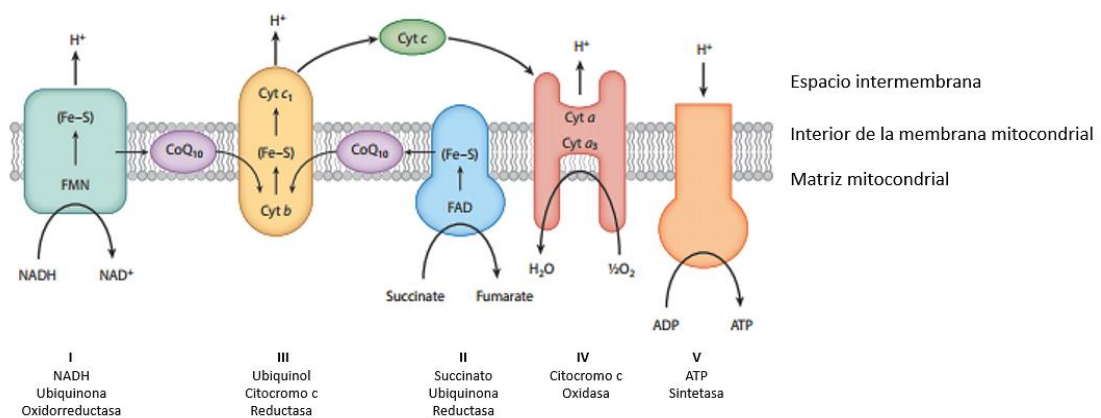


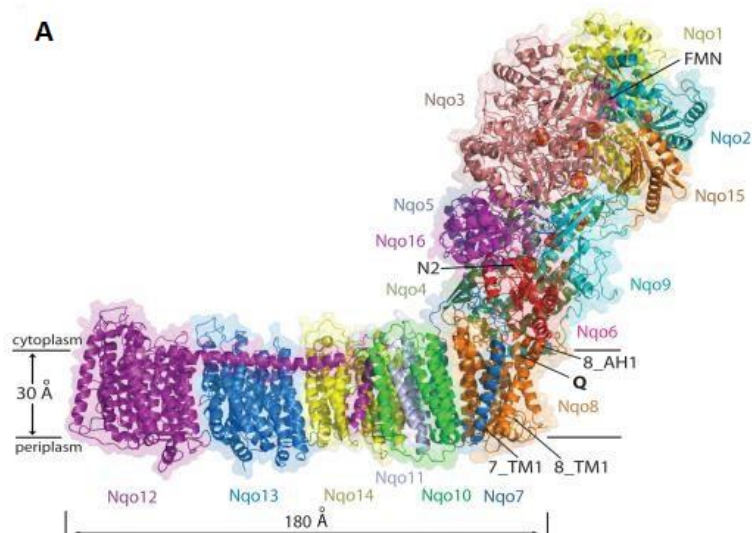
Figura 3. Cadena de transporte de electrones y OXPHOS. Se muestra el número de subunidades de cada complejo y su origen (Adaptado de Wiggs, 2015).

El ADNmt codifica varias subunidades importantes de la OXPHOS y del ARN requerido para dicha expresión. A través de este sistema, las células obtienen la mayoría del ATP necesario para vivir, de manera que la importancia de la energía mitocondrial hace al ADNmt un candidato interesante en el estudio de las enfermedades mitocondriales (Gómez-Durán y cols., 2010). Además de la producción de ATP, las mitocondrias desarrollan otras funciones

vitales para la célula relacionadas con los procesos de apoptosis y el metabolismo de las especies reactivas de oxígeno (ROS, del inglés reactive oxygen species) (Carelli y cols., 2004).

4.2.2. Alteraciones en el complejo I de la cadena respiratoria

El complejo I de la cadena de transporte electrónico mitocondrial es el componente más grande y el menos conocido de la cadena respiratoria y constituye el principal punto de entrada de los electrones a la misma, transfiriendo los electrones del NADH a la CoQ, proceso que está a su vez asociado al bombeo de protones desde la matriz mitocondrial al espacio intermembrana de la mitocondria. El complejo I produce aproximadamente el 40% del movimiento de protones y es considerado, por otra parte, la mayor fuente mitocondrial de ROS (Zickermann y cols., 2008). Tiene una característica estructura en forma de L con un brazo hidrofóbico embebido dentro de la membrana mitocondrial interna y un brazo hidrofílico periférico que sobresale hacia la matriz mitocondrial (Baradaran y cols., 2013; Figura 4). Este complejo puede considerarse organizado en cuatro módulos de acuerdo con sus funciones: la oxidación de NADH y la reducción de quinona están localizadas en el brazo periférico, y otros dos módulos adicionales de bombeo de protones forman el brazo en el interior ubicado en la membrana, denominados proximal y distal de acuerdo con la distancia al brazo periférico. La energía necesaria para el bombeo de protones es generada por las reacciones REDOX que ocurren en los módulos del brazo periférico, donde el cofactor flavín mononucleótido (FMN, del inglés flavin mononucleotide) acepta electrones del NADH y los transfiere para la reducción de la CoQ, en un flujo por medio del cual se pierde parte de la energía de los electrones que es usada por los módulos del bombeo de protones. Los genes *ND1-5*, ubicados en el ADNmt, codifican los correspondientes polipéptidos, componentes hidrofóbicos del complejo I ubicados en la membrana mitocondrial.



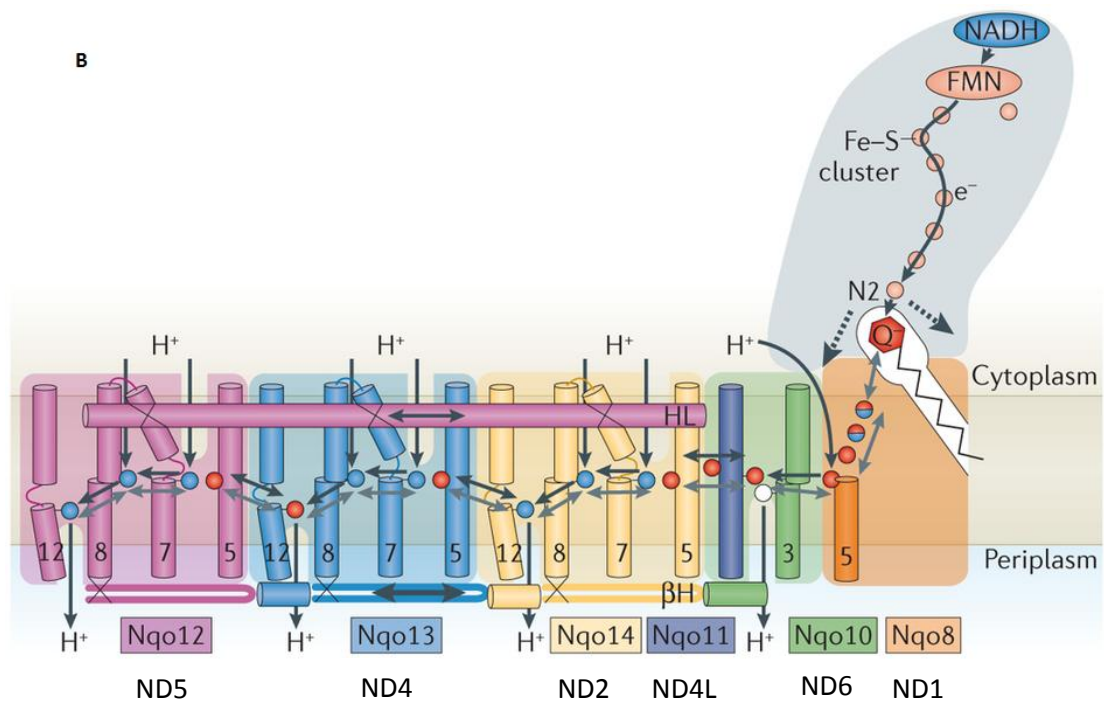


Figura 4. A: Estructura del complejo I mitocondrial; B: Propuesta del acoplamiento de electrones a lo largo del complejo I (Adaptadas de Baradaran y cols., 2013).

Una disfunción del complejo I conduce a una disminución de la capacidad respiratoria. La producción de ATP es un parámetro de frecuente medición en las patologías mitocondriales y particularmente en los estudios sobre la NOHL. Las mutaciones actualmente identificadas en la NOHL, como se verá a continuación, afectan fundamentalmente a los genes codificantes para el complejo I. De hecho, muchos estudios describen una reducción severa en la producción de ATP mitocondrial u otros aspectos debido a mutaciones de la NOHL y, como consecuencia, las alteraciones en el complejo I han sido propuestas como uno de los factores clave en la fisiopatología de la enfermedad (Baracca y cols., 2005; Yu-Wai-Man y cols., 2011). Si bien la deficiencia en el complejo I es comúnmente aceptada, el grado de deficiencia es discutido por la gran variabilidad descrita en la literatura, en parte debido a las diferencias en las aproximaciones experimentales y a las mutaciones en el ADNmt.

4.2.3. Mutaciones en el ADN mitocondrial que producen NOHL

La NOHL es debida en la gran mayoría de los casos (90-95%) a tres mutaciones puntuales en el ADNmt, que se denominan *mutaciones primarias* en esta enfermedad, las cuales son homoplásmicas en la mayoría de las familias y afectan a uno de los genes mitocondriales de la NADH: ubiquinona reductasa, el complejo I de la cadena de transporte de electrones produciendo el cambio por sustitución de un aminoácido. Estas mutaciones primarias de la NOHL afectan a tres puntos diferentes del complejo I de la cadena respiratoria

mitocondrial y están localizadas en las siguientes posiciones: m.3460G>A en el gen *ND1*; m.11778G>A en el gen *ND4* y m.14484T>C en el gen *ND6*.

Aunque se sabe con certeza que estas tres mutaciones primarias generan una disfunción mitocondrial, los datos existentes hasta la fecha son ampliamente discutidos, sobre todo en cuanto al grado de severidad de dichas mutaciones. Esto puede ser en parte debido a la dificultad de comparación de los diferentes parámetros examinados, fuentes biológicas y técnicas utilizadas. De estas mutaciones, m.11778G>A es la más común en el noreste de Europa, Australia y países lejanos del Este. En el Canadá francés, aproximadamente el 90% de los casos son producidos por la mutación m.14484T>C (Yu-Wai-Man y cols., 2009). Como las tres mutaciones primarias de NOHL implican a las subunidades del complejo I, su impacto en la OXPHOS mitocondrial ha sido extensamente investigado usando un amplio rango de tipos celulares y de ensayos bioquímicos. Los ensayos realizados *in vitro* no han sido siempre consistentes debido al extenso defecto en la cadena respiratoria en la NOHL, pero la mayoría de las evidencias respaldan una desregulación predominante en la síntesis de ATP que depende del funcionamiento del complejo I. Estudios *in vivo* mediante espectroscopía de resonancia magnética con fósforo-31 (³¹P-MRS, del inglés ³¹P-magnetic resonance spectroscopy) han demostrado que el defecto bioquímico de la NOHL en la mutación m.11778G>A implica una reducción más pronunciada en la síntesis de ATP en la mitocondria, seguido de la m.14484T>C y la m.3460G>A (Tabla 1).

TABLA 1. Actividades mitocondriales en la NOHL según la mutación.

Mutaciones ADNmt	<i>In vitro</i>			<i>In vivo</i>
	Actividad complejo I (%)	Índice respiratorio (%)	Síntesis ATP (%)	³¹ P-MRS (%)
m.3460G>A	60-80	30-35	90	0-40
m.11778G>A	0-50	30-50	35	75
m.14484T>C	0-65	10-20	90	50

Disminución en % en relación con los controles. Muestra las consecuencias bioquímicas de las mutaciones primarias de la NOHL (Adaptado de Yu-Wai-Man y cols., 2011).

No obstante, es importante destacar que, además de estas tres mutaciones primarias identificadas, existen más de 40 mutaciones puntuales asociadas a la NOHL que se pueden consultar en la base de datos MITOMAP. Las mutaciones asociadas a la NOHL se han clasificado en diferentes grupos según la predominancia descrita en la población (Tabla 2), denominándose mutaciones secundarias aquellas que son menos frecuentes. También existe un grupo de familias únicas o casos únicos de entre los cuales se cita, por ejemplo, la mutación m.11253T>C (Cruz-Bermúdez y cols., 2016).

TABLA 2. Mutaciones descritas en la NOHL

	Mutation	Gene	Change
Common variants (~90%)	11778 G>A	MT-ND4	R340H
	3460 G>A	MT-ND1	A52T
	14484 T>C	MT-ND6	M64V
Rare variants (~10%)	3635 G>A	MT-ND1	S110N
	3733 G>A		E143H
	4171 C>A		L289M
	4640 C>A	MT-ND2	I57M
	5244 G>A		G259S
	10663 T>C	MT-ND4L	V65A
	10680 G>A ^a		A71T
	14482 C>A, C>G	MT-ND6	M64I
	14495 A>G		L60S
	14502 T>C ^b		I58V
	14568 C>T		G36S
Reported rare variants in ND subunits	3700 G>A	MT-ND1	A112T
	3736 G>A		V144I
	4025 T>C		T240M
	4160 T>C		L285P
	4640 C>A	MT-ND2	I57M
	4852 T>A		L128Q
	5244 G>A		G259S
	10237 T>C	MT-ND3	I60T
	10543 A>G	MT-ND4L	H25R
	10591 T>G		F41C
	11253 T>C	MT-ND4	I165T
	11696 G>A		V312I
	11874 C>A		T372N
	12782 T>G	MT-ND5	I149S
	12811 T>C		Y159H
	12848 C>T		A171V
	13051 G>A		G239S
	13379 A>C		H348P
	13637 A>G		Q434R
	13730 G>A		G465E
	14279 G>A	MT-ND6	S132L
	14325 T>C		N117D
	14498 C>T		Y59C
14596 A>T		I26M	
Reported rare variants in other mtDNA genes	7623 C>T	MT-CO2	T13I
	8668 T>C	MT-ATP6	W48R
	8836 A>G		M104V
	9016 A>G		I164V
	9101 T>C		I192T
	9660 A>C	MT-CO3	M152L
	9738 G>T		A178S
	9804 G>A		A200T
	14831 G>A	MT-CYB	A29T
	15674 T>C		S310P

Variantes del ADNmt identificadas en pacientes con NOHL (Maresca y cols., 2013).

Además de estas mutaciones primarias y secundarias de la NOHL, se han descrito también otros puntos de mutación del complejo I asociados a otros fenotipos además de a la NOHL, como el síndrome de miopatía, encefalopatía, acidosis láctica y episodios semejantes a apoplejías (MELAS), distonía, epilepsia mioclónica asociada a fibras rojas rotas (MERFF) y el síndrome de Leigh (Tabla 3) (Maresca y cols., 2013). Estas mutaciones afectan más frecuentemente a las subunidades de los genes *ND1*, *ND5* y *ND6*, pero también a *ND2*, *ND3* y *ND4*. En algunos casos, la atrofia óptica sintomática y no sintomática se asocia a otras mutaciones del ADNmt además de las que afectan a las subunidades de los genes *ND* del complejo I, tales como por ejemplo en el citocromo b, la citocromo c oxidasa I (MT-CO) y el gen 6 de la ATPasa (Maresca y cols., 2013) (Tabla 1).

TABLA 3. Otras mutaciones que producen distintas manifestaciones además de la NOHL

Mutation	Gene	Clinical phenotype
3376 G > A	MT-ND1	LHON/MELAS
3697 G > A		LHON/MELAS
10197 G > A	MT-ND3	LHON/dystonia
13042 G > A	MT-ND5	LHON/MELAS/MERFF
13045 A > C		MELAS/LHON/Leigh
13513 G > A		LHON/MELAS/Leigh
13514 G > A	MT-ND6	LHON/MELAS
14459 G > A		LHON/dystonia
14600 G > A		LHON/MELAS/Leigh

Mutaciones patógenas asociadas a la NOHL y a otras enfermedades (Maresca y cols., 2013).

Es importante destacar que, de hecho, la primera mutación mitocondrial puntual que fue relacionada con una enfermedad humana fue precisamente la mutación m.11778G>A del gen *ND4L*, que da origen a la NOHL, una mutación que además se demostró que era homoplásmica (Wallace y cols., 1988) al igual que las otras dos mutaciones más comunes (m.3460G>A en el gen *ND1* y m.14484T>C en *ND6*). Desde entonces, son muchas las mutaciones mitocondriales que se ha demostrado que guardan relación con enfermedades humanas. La Figura 5 muestra un mapa del ADN mitocondrial humano con algunas de las mutaciones identificadas y las enfermedades relacionadas con las mismas.

También existen estudios sobre si podría existir una mayor probabilidad de manifestar la NOHL si existen en un mismo individuo varias mutaciones conjuntas, aunque actualmente no hay resultados que lo avalen (Cruz-Bermúdez y cols., 2016).

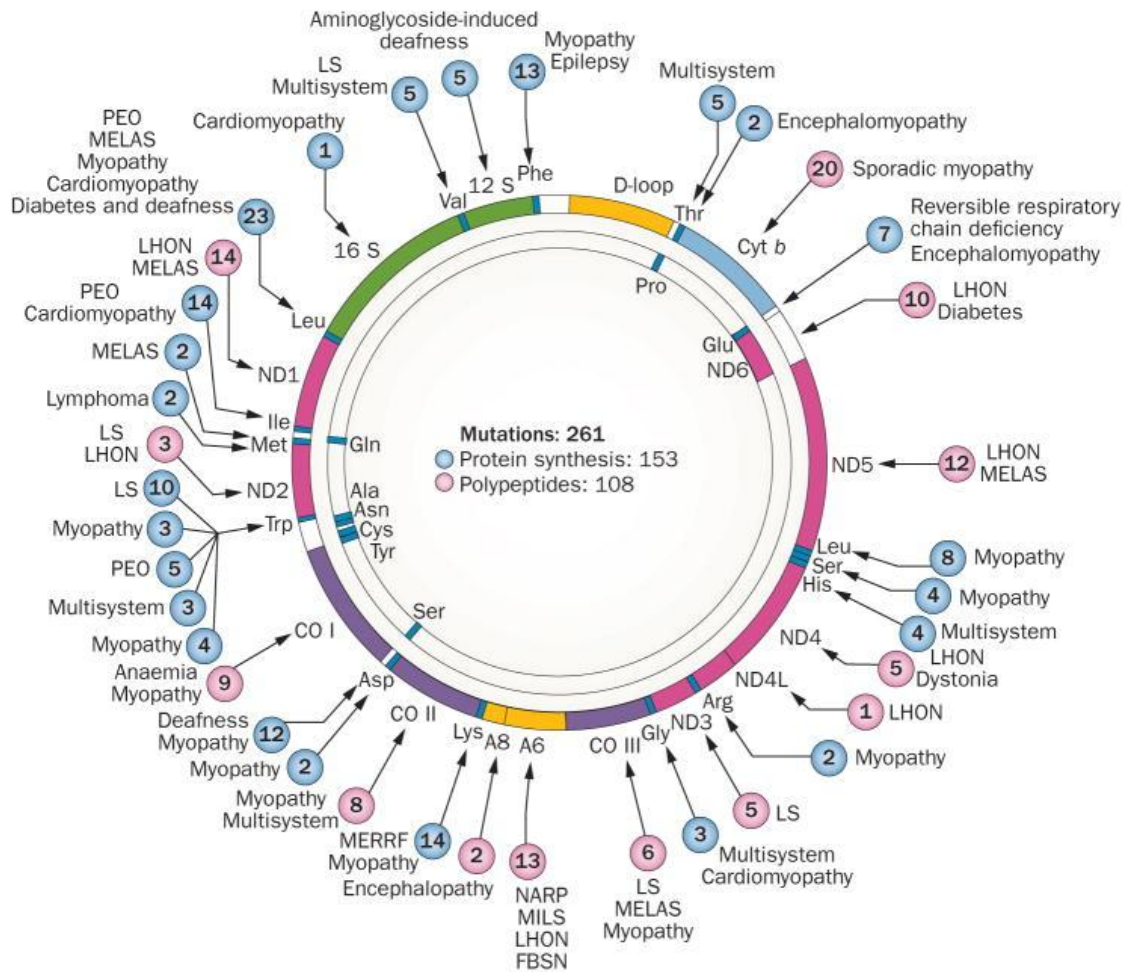


Figura 5. Mapa mitocondrial de incidencias de enfermedades. Mapa esquemático de los 16.569 pares de base del ADNmt, en el cual las secciones por colores representan genes codificadores de proteínas: siete subunidades del complejo I (ND, secciones rosas), una subunidad del complejo III (citocromo b, secciones celestes), tres subunidades de la citocromo c oxidasa (CO, secciones moradas), dos subunidades de la ATP sintasa (A6 y A8, secciones amarillas), subunidad 12S y 16S del ARN ribosómico (secciones verdes), y 22 ARNs transferentes identificados por el código de tres letras del correspondiente aminoácido (secciones azules). Las enfermedades producidas por las mutaciones en los genes que afectan a la síntesis de las proteínas están indicadas en círculos azules y las mutaciones de los genes que codifican para las proteínas de la cadena respiratoria están indicadas en círculos rosas. Los números de los círculos representan el número de las mutaciones referido a dicho sitio (Di Mauro y cols., 2013).

La probabilidad de una cierta recuperación visual es mayor en la mutación m.14484T>C y menor en la mutación m.11778G>A, teniendo en la mutación m.3460G>A una mejoría intermedia en la visión (Fraser y cols., 2010; Yu-Wai-Man y cols., 2009). No obstante, hay que señalar que la NOHL tiene un impacto negativo en la mayoría de las actividades diarias y en la calidad de vida, como evalúan todos los índices de función visual, siendo peor que en otras enfermedades oftalmológicas adquiridas o heredadas ya que puede constituir una tragedia para los pacientes que pueden quedar ciegos o para sus familias, al no ser una enfermedad asociada a una edad tardía.

4.2.4 Haplogrupos

Se entiende por linaje materno o haplogrupo, a un grupo monofilético de genomas mitocondriales relacionados entre sí por mutaciones únicas compartidas y heredadas de un único ancestro materno (Torroni y Wallace, 1994). Así, la mayoría de haplotipos o conjuntos de variantes ligadas en el ADNmt de los individuos pueden ser reunidos en unos pocos haplogrupos que muestran una distribución étnica o geográfica restringida.

Los haplogrupos mitocondriales guardan relación con la eficiencia de la cadena respiratoria mitocondrial con lo que se piensa que esto podría posiblemente relacionarse también con el impacto negativo de las mutaciones de NOHL en la supervivencia de las RGCs (Gómez-Durán y cols., 2010; Gómez-Durán y cols., 2012). De hecho, la asociación de haplogrupos específicos con determinadas mutaciones primarias está hoy considerada como uno de los posibles factores de riesgo determinantes de la enfermedad (Achilli y cols., 2012). Se han identificado nueve grandes haplogrupos en humanos dentro de la población europea: H, J, K, I, T, U, V, X y W (Manusco y cols., 2008) y se piensa que algunos haplogrupos pueden influir en la expresión y penetrancia de la NOHL, como es el caso del haplogrupo J. Las mutaciones primarias m.11778G>A y m.14484T>C se encuentran más comúnmente en el haplogrupo J que en otros haplogrupos del ADNmt. Un largo estudio de linajes europeos sugiere que la penetrancia de estas mutaciones primarias se ve aumentada cuando las mutaciones se encuentran en el haplogrupo J, y que la pérdida de visión se reduce cuando éstas se encuentran en el haplogrupo H. De forma similar, la enfermedad causada por la mutación m.3460G>A es más severa cuando se expresa en el haplogrupo K comparado con otros haplogrupos (Hudson y cols., 2007; Tabla 4).

El efecto modificador del haplogrupo J puede deberse a alteraciones específicas de los complejos I y III con distintos polimorfismos que caracterizan a los sub-haplogrupos J1 para la mutación m.14484T>C y sublinajes J1c y J2 para la mutación m.11778G>A (Carelli y cols., 2006). Un estudio en el que se investiga la eficiencia de OXPHOS en células portadoras de diferentes haplogrupos de personas sanas revela un sutil defecto en la capacidad OXPHOS de las células portadoras del haplogrupo J, lo que conduce a apoyar el efecto modificador en la penetrancia mitocondrial en la NOHL (Gómez-Durán y cols., 2012).

TABLA 4. Haplogrupos y mutaciones NOHL

Sex and mtDNA Haplogroup	11778G→A ^a		14484T→C		3460G→A	
	Unaffected	Affected	Unaffected	Affected	Unaffected	Affected
Male:						
H	289	155	1	...	112	36
J1	127	79	206	172	35	20
J2	34	36	38	18	15	16
K	30	17	18	15
T	21	25
U (without K)	51	36	8	4
V	19	3
W	2	1
X	48	21	3	2
Other	<u>21</u>	<u>11</u>	<u>...</u>	<u>...</u>	<u>16</u>	<u>4</u>
Total	623	381	248	192	223	98
Female:						
H	437	42	1	...	141	18
J1	185	27	292	25	53	6
J2	90	15	86	3	22	2
K	47	7	31	11
T	40	1
U (without K)	86	11	14	1
V	17	2
W	5	3
X	62	4	4
Other	<u>28</u>	<u>6</u>	<u>...</u>	<u>...</u>	<u>15</u>	<u>4</u>
Total	980	116	383	28	293	44

Distribución de haplogrupos en sujetos afectados y no afectados por las mutaciones primarias. La mutación marcada con el subíndice *a* indica que el sexo de cuatro de los sujetos del estudio no es conocido (no se encuentran incluidos en la tabla), todos pertenecientes al mismo haplogrupo de la m.11778G>A (Hudson y cols., 2007).

Algunas observaciones referidas a las tres mutaciones primarias son: 1) la penetrancia de m.14484T>C está aumentada en el haplogrupo J, más predominantemente en el sub-haplogrupo J1; 2) la penetrancia de m.11778G>A se ve también aumentada en el haplogrupo J, pero para esta mutación el efecto es más importante en el sub-haplogrupo J2; 3) la penetrancia de m.11778G>A se ve reducida en el haplogrupo H, lo que le confiere un efecto protector; 4) la penetrancia de m.3460G>A está aumentada en el haplogrupo K (Carelli y cols., 2006). Otros estudios en China han descrito que la mutación m.11778G>A aumenta el riesgo de pérdida de visión cuando la herencia mostraba el haplogrupo M7b1'2 y disminuye el riesgo con el haplogrupo M8a (Ji y cols., 2008).

4.3. PENETRANCIA INCOMPLETA EN LA NOHL. OTROS FACTORES

LA NOHL presenta una penetrancia incompleta y afecta con mayor frecuencia a los varones. La pérdida de visión ocurre en un 50% de los varones que heredan la mutación, pero sólo en un 10% de las mujeres (Meyerson y cols., 2015). Así, los hijos de una mujer portadora de una mutación de NOHL heredarán dicha mutación aunque no necesariamente manifestarán la enfermedad, mientras que los hijos de varones afectados no la heredarán.

El hecho de que la NOHL presente una penetrancia incompleta y un retraso en el inicio implica que la expresión fenotípica puede estar relacionada con otros factores adicionales además de las mutaciones conocidas, como son los antecedentes genéticos nucleares y mitocondriales, factores ambientales y factores relacionados con la edad (Cruz-Bermúdez y cols., 2016). Así, se puede decir que las mutaciones en el ADNmt identificadas como patógenas, las cuales son en la mayoría de los casos homoplásmicas, no explican al menos dos hechos cruciales en la NOHL: la prevalencia en varones y la penetrancia incompleta. Por tanto, la mutación en el ADNmt es una condición necesaria pero no suficiente para esta patología, donde deben existir, además, otros factores secundarios que pueden modificar el riesgo de la pérdida de visión (Figura 6), tal y como se explica a continuación.

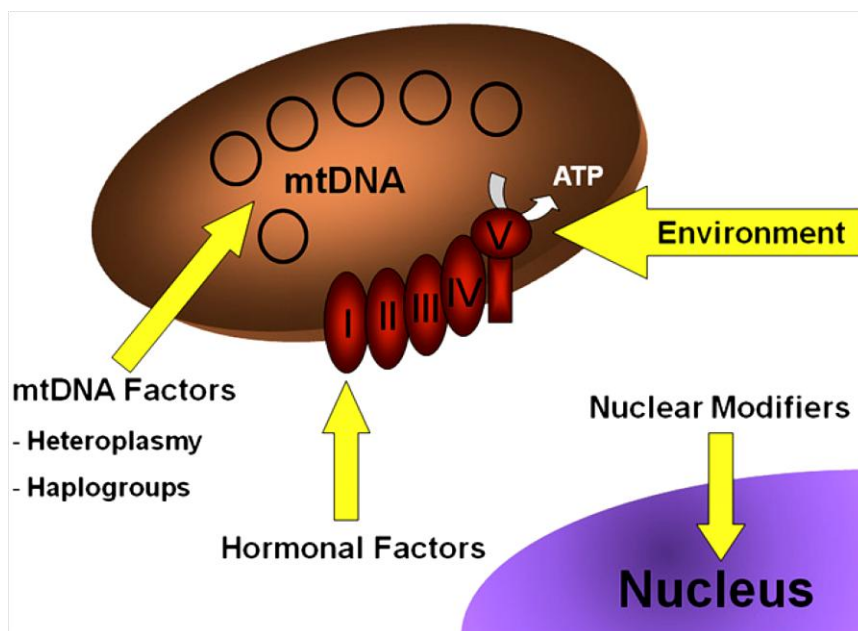


Figura 6. Interacciones en la NOHL que juegan un papel importante en la penetrancia (Yu-Wai-Man y cols., 2011).

4.3.1. Factores genéticos nucleares y factores hormonales

La prevalencia diferencial de la enfermedad en los varones no puede ser explicada exclusivamente por los principios de la herencia mitocondrial. El cromosoma X ha sido considerado durante un largo tiempo como un buen candidato para explicar la diferencia genética y la penetrancia variable de la enfermedad por la presencia en el mismo de algún alelo recesivo que pudiese estar vinculado a un gen susceptible que trabaje en conjunto con la mutación mitocondrial, explicando así el predominio de la enfermedad en varones, ya que éstos sólo tienen un cromosoma X. Por otra parte, las mujeres que padecen la pérdida de visión podrían ser homocigotas en un locus del cromosoma X o podrían haber experimentado una desafortunada inactivación del cromosoma X sano (Bu y Rotter, 1991). Algunos análisis han descubierto una región en el brazo largo del cromosoma X que podría contener algún gen susceptible de esta actividad, aunque todavía no se ha identificado el gen responsable (Hudson y cols., 2005; Ji y cols., 2010; Shankar y cols., 2008). Se están utilizando herramientas bioinformáticas muy sofisticadas para el análisis de los posibles genes candidatos y para restringir áreas específicas de interés. Así, la NOHL podría ser una de las enfermedades consideradas originalmente complejas, con una posible existencia de modificadores autosómicos nucleares.

Dentro de los estudios sobre posibles modificaciones genéticas secundarias en la NOHL, se han examinado también los factores hormonales que podrían influir en la expresión fenotípica de la enfermedad, explicando también que la razón de la baja prevalencia en mujeres puede estar relacionada con el papel protector de los estrógenos en el metabolismo celular. En mujeres, los estrógenos podrían modificar la severidad de la disfunción mitocondrial, incluyendo el defecto en la síntesis de ATP, el estrés oxidativo y la apoptosis. En investigaciones con líneas celulares con mutaciones homoplásmicas de la NOHL, el suplemento con 17β -estradiol condujo a la activación de la biogénesis mitocondrial, incrementó la actividad de la superóxido dismutasa 2 (SOD2), disminuyó la producción de ROS y redujo la apoptosis (Giordano y cols., 2011). Además, se ha comprobado que el receptor β de estrógenos es particularmente abundante en las RGCs y sus axones dentro de la RNFL (Giordano y cols., 2011). Así, los datos obtenidos de los modelos celulares pueden constituir una buena aproximación al estudio de los efectos de los estrógenos en dianas *in vivo* de los tejidos afectados en la NOHL, convirtiendo a estos tejidos afectados en diana para posibles estrategias terapéuticas con estrógenos en portadores jóvenes de la NOHL, evitando o suprimiendo el inicio de la enfermedad (Pisano y cols., 2015).

4.3.2. Estrés oxidativo y apoptosis

Aunque la función fisiológica principal de la mitocondria es la producción de ATP, la mitocondria también tiene un papel importante en la generación y protección frente a ROS, el transporte de calcio, el metabolismo de nucleótidos, el ciclo de la urea y la apoptosis.

La cadena respiratoria mitocondrial es una gran fuente de ROS ya que la disfunción del complejo I en la NOHL activa la pérdida de electrones produciendo un exceso de ROS. Se cree que el estrés oxidativo causado por la mutación es responsable del daño celular, teniendo como resultado la activación de la apoptosis en RGCs. Una consecuencia importante del estrés oxidativo es la inducción de daño en el ADN; los niveles de 8-hidroxiguanosina, un marcador de daño en el ADN, están elevados en leucocitos de pacientes de la NOHL comparados con individuos sanos (Yen y cols., 2004). A su vez, el aumento del estrés oxidativo podría explicarse por la reducción de defensas antioxidantes como la glutatión peroxidasa (GPX), la glutatión reductasa (GR) y la superóxido dismutasa dependiente de cobre y cinc (CuZnSOD) o de manganeso (MnSOD) (Floreani y cols., 2005). Por otra parte, otros autores han sugerido que aunque la reducción de la concentración de ATP resultante de la deficiencia del complejo I pueda estar implicada en la patogenicidad de la NOHL, en algunos casos la producción de ATP en modelos celulares humanos y de ratón permanece inalterada, mientras que el estrés oxidativo aparece elevado, indicando un papel para las ROS como causantes de la degeneración de las RGCs (Carelli y cols., 2004).

Estudios recientes sugieren que el estado REDOX alterado de las mitocondrias en la NOHL puede conducir a un evento apoptótico no inflamatorio, donde la apoptosis podría ser el último escalón en el proceso neurodegenerativo que afecta a las RGCs en las neuropatías ópticas mitocondriales. La apoptosis mitocondrial en la NOHL puede estar mediada por la inhibición de la separación de Bcl-2 y la translocación de Bax/Bak, causando la liberación de citocromo c, importante en la activación de Apaf1 y básicamente en la escisión y activación de las proteínas de la familia de las caspasas. Aunque el mecanismo por el cual Bcl-2 es inhibido en la NOHL sigue siendo un misterio, la deficiencia del complejo I probablemente produce un exceso de ROS, a la vez que la capacidad celular de regular el estrés oxidativo crónico disminuye, con lo que las células promotoras mueren por apoptosis, especialmente las RGCs (Hayashi y Cortopassi, 2015).

4.3.3. Factores ambientales

Diferentes manifestaciones de la enfermedad en hermanos gemelos monocigotos apoyan la hipótesis de que ciertos factores medioambientales pueden influir también en la expresión de la enfermedad (Biousse y cols., 1997).

Se han investigado los efectos del alcohol y el tabaco como factores de riesgo medioambientales en la pérdida de visión en la NOHL (Dimitriadis y cols., 2014). Otros estudios sugieren una posible asociación entre el tabaco y la pérdida de visión, ya que la manifestación de la enfermedad en varones fumadores está alrededor del 93% mientras que hay un 66% de penetrancia en varones no fumadores. Se piensa que el humo del tabaco puede afectar a la actividad del complejo I y reducir a su vez la actividad de la citocromo c oxidasa, aumentando así la producción de ROS. Por otra parte, una ingesta elevada de alcohol también está asociada a una gran probabilidad de pérdida de visión, aunque esta relación es menos significativa que la del tabaco (Kirkman y cols., 2009).

Otros factores ambientales conocidos que producen riesgo de manifestación de la NOHL son algunos antibióticos y la exposición a toxinas, al igual que la nutrición (Yu-Wai-Man y cols., 2011).

4.4. PERSPECTIVAS FUTURAS DE ESTUDIO Y TRATAMIENTO EN LA NOHL

Como se ha puesto anteriormente de manifiesto, quedan aún importantes preguntas por contestar sobre la patogénesis de la NOHL y/o la correspondiente disfunción mitocondrial asociada. Así, es preciso aportar explicaciones sobre la vulnerabilidad selectiva de las RGCs, especialmente las que forman el conjunto papilomacular, y las manifestaciones variables relacionadas con ésta y otras muchas enfermedades mitocondriales. Resulta muy interesante el hecho de que algunas mutaciones en un gen que afectan a la misma función mitocondrial puedan también tener efectos variables en la función de las RGCs; por ejemplo, la NOHL está relacionada con las RGCs del conjunto papilomacular, por lo que se sugiere que el problema en el complejo I tiene una predilección selectiva por estas células. Más allá de buscar definiciones sobre el papel de la disfunción mitocondrial en las enfermedades del nervio óptico, es necesario aportar un mejor entendimiento de la causa molecular de la enfermedad para poder sugerir nuevas terapias potencialmente neuroprotectoras. Por otra parte, resulta de particular interés el descubrimiento de nuevos genes relacionados con las neuropatías ópticas y el análisis de las posibles interacciones entre las distintas variantes de genes mitocondriales y otros genes nucleares (Wiggs, 2015).

Aún no se han encontrado tratamientos absolutamente eficaces para la cura de la NOHL. La mayor parte de los estudios realizados hasta la fecha se refieren principalmente al uso de análogos de la CoQ, como el tratamiento con Idebenona, una quinona análoga de la CoQ. Este compuesto ha demostrado su efectividad para aumentar el índice de recuperación en la NOHL, especialmente en pacientes con distintos grados de agudeza visual, siempre y cuando los pacientes sean tratados en etapas tempranas de la enfermedad y durante un largo tiempo (Carelli y cols., 2011; Klopstock y cols., 2011). Estos resultados sugieren que existe una posibilidad de aumentar el índice de recuperación visual con tratamientos con idebenona. La coenzima Q10 y la idebenona son capaces de evitar el defecto causado en el complejo I por las mutaciones de la NOHL, permitiendo la transferencia de electrones hasta el complejo III por otras vías (Geromel y cols., 2002). Idebenona y EPI-743 son derivados quinónicos análogos a la CoQ (Figura 7) que pueden entrar fácilmente en el cerebro y alcanzar la mitocondria, al contrario que la coenzima Q10 que al ser muy lipofílica es incapaz de alcanzar la mitocondria. Se ha demostrado que la idebenona es capaz de permitir una ruta alternativa de entrada de electrones por el complejo I y mantener así la producción de ATP, evitando también la peroxidación de lípidos y protegiendo a la mitocondria del daño oxidativo (Giorgio y cols., 2012). Aunque existen varios estudios y ensayos sobre la idebenona, aún son pocos los estudios con EPI-743, si bien se ha puesto de manifiesto la eficacia del mismo en tratamientos inferiores a un año en algunos pacientes (Sadun y cols., 2012).

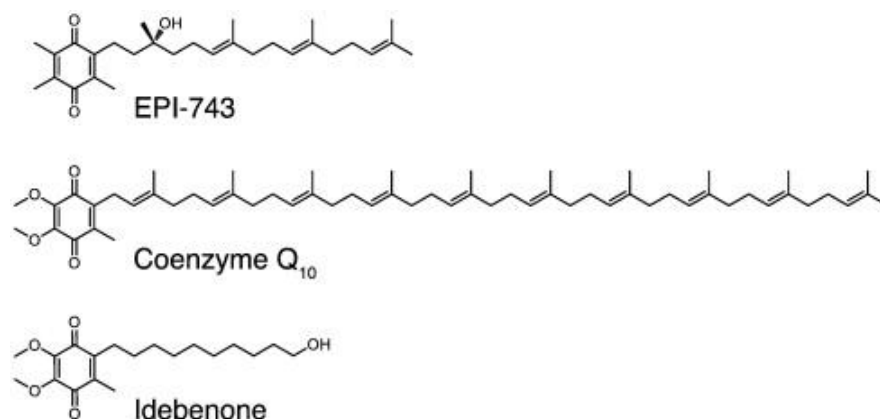


Figura 7. Estructuras químicas de EPI-743, CoQ e idebenona. EPI-743 es una molécula biodisponible oralmente que fácilmente atraviesa la barrera sangre-cerebro, sin efectos adversos observados de forma pre-clínica con niveles de 100mg/Kg. Además EPI-743 posee un importante cambio en el anillo de la quinona. En comparación con el grupo bis-metoxi de CoQ y la serie de idebenona, EPI-743 posee una sustitución bis-metil y una oxidación-reducción con un potencial redox de 75mV, en comparación con la CoQ y la idebenona (Enns y cols., 2011).

Otras estrategias terapéuticas para el tratamiento de la NOHL incluyen el uso de medicamentos que puedan estimular la biogénesis mitocondrial, que se ha demostrado como

un posible mecanismo compensatorio tanto para la NOHL como para otras enfermedades mitocondriales. La biogénesis de la mitocondria está regulada en parte por el activador transcripcional PGC-1 α , el cual es controlado por el receptor activado por el factor proliferador de peroxisomas (PPAR, del inglés peroxisome proliferator-activated receptor) y la activación de una proteína quinasa dependiente de AMP. Sin embargo, permanece sin ser demostrado si la activación farmacológica de la biogénesis puede producir beneficios a los pacientes afectados por la NOHL.

Por otra parte, la terapia génica es bastante prometedora en el tratamiento de la NOHL. El ojo es fácilmente accesible y aporta un espacio privilegiado a la hora de inyectar un vector vírico, accediendo fácilmente a la capa de RGCs. Sin embargo, todavía no se ha desarrollado bien la técnica para introducir genes directamente en el genoma mitocondrial, ya que la doble membrana de la mitocondria supone un gran obstáculo. La mejor aproximación desarrollada para la NOHL ha sido el virus adenoasociado (AAV, del inglés adeno-associated virus), mediador de la expresión alotópica de los genes codificados por el ADNmt, y que se ha probado en células de híbridos con la mutación homoplásmica m.11778G>A (Guy y cols., 2009). Otro gen que se ha expresado de forma alotópica en células con la mutación m.11778G>A es el gen *SOD2*, el cual actúa sobre los radicales libres de la mitocondria, aunque su actividad se ha visto atenuada en estas células (Floreani y cols., 2005). Todos estos estudios muestran un gran potencial terapéutico, pero es necesario evaluar los diferentes efectos adversos observados y que se determine cómo de beneficiosos llegan a ser los efectos que se producen.

Otra posible terapia es el uso de células madre. Aunque este tratamiento se encuentra todavía en las fases preliminares, existen dos técnicas que actualmente se encuentran bajo investigación. Una de las técnicas implica el trasplante de RGCs, aunque ello conlleva la dificultad de que el trasplante de RGCs consiga unas conexiones neuronales correctas cuando éstas se integran en la retina. Se sabe que puede existir cierta recuperación de la visión, por lo que se deduce que existen RGCs que no han sido afectadas por la disfunción mitocondrial y el estrés oxidativo, de manera que la terapia estaría encaminada a proteger esas células y mantener otras protegidas (Meyerson y cols., 2015).

5. CONCLUSIONES

Gracias a los muchos estudios llevados a cabo sobre la NOHL, se sabe que la existencia de mutaciones en el ADNmt que afectan fundamentalmente a la estructura y función del complejo I de la cadena respiratoria, y en consecuencia a la OXPHOS, es una condición

absolutamente necesaria para el desarrollo de la enfermedad. Sin embargo, todavía permanecen sin esclarecer otros posibles factores que influyen en el desarrollo y manifestación de la enfermedad y que incluyen la posible existencia de genes nucleares implicados, factores hormonales, estrés oxidativo y apoptosis, factores ambientales u otras causas indeterminadas. Es importante resaltar que aunque la pérdida de visión es la manifestación característica de esta enfermedad, existen otras manifestaciones posibles que han sido discutidas en diversos estudios. Si bien no se conoce exactamente el proceso por el cual se produce la pérdida de la visión, se sabe que están involucradas las células ganglionares de la retina y que hay una desregulación en la producción de ATP y ROS en la mitocondria. Desafortunadamente, los tratamientos encaminados a la cura de la enfermedad o a evitar que los pacientes comiencen con los síntomas de pérdida de la visión todavía no ofrecen grandes resultados, debido quizás a la existencia de esos otros factores que, además de los ya conocidos, pueden estar relacionados con la enfermedad e impiden identificar una diana terapéutica clara. Aun así, han sido muchos los avances realizados sobre la enfermedad y sus posibles terapias en los últimos años, existiendo en la actualidad varias líneas de investigación muy prometedoras que deberían permitir el descubrimiento de las causas reales de la manifestación de la enfermedad, aportando una solución a las personas afectadas por la misma.

6. BIBLIOGRAFÍA

Achilli A, Iommarini L, Olivieri A, Pala M, Hooshiar B, Reynier P, et al. Rare primary mitochondrial DNA mutations and probable synergistic variants in Leber's hereditary optic neuropathy. *Plos One*. 2012; 7(8): 1-11. Estudio del genoma mitocondrial en relación con mutaciones de la NOHL diferentes a las tres mutaciones primarias.

Balducci N, Savini G, Cascavilla ML, La Morgia C, Triolo G, Giglio R, et al. Macular nerve fibre and ganglion cell layer changes in acute Leber's hereditary optic neuropathy. *Br J Ophthalmol*. 2015; 0: 1-6. Evaluación de los procesos ópticos que varían durante la fase aguda de la NOHL.

Baracca A, Solaini G, Sgarbi G, Lenaz G, Baruzzi A, Schapira AH, et al. Severe impairment of complex I-driven adenosine triphosphate synthesis in leber hereditary optic neuropathy cybrids. *Arch Neurol*. 2005; 62(5): 730-736. Estudio de la disfunción mitocondrial en las diferentes mutaciones primarias de la NOHL.

Baradaran R, Berrisford JM, Minhas GS, Sazanov LA. Crystal structure of the entire respiratory complex I. *Nature*. 2013; 494: 443-450. Trabajo referente a las características del complejo I de la mitocondria.

Biousse V, Brown M, Newman N, Allen JC, Rosenfield J, Meola G, et al. De novo 14484 mitochondrial DNA mutation in monozygotic twins discordant for Leber's hereditary optic neuropathy. *Neurol*. 1997; 49: 1136-1138. Descripción de un nuevo caso de mutación sin existir antecedentes familiares.

Bu X, Rotter J. X chromosome-linked and mitochondrial gene control of Leber hereditary optic neuropathy: evidence from segregation analysis for dependence on X chromosome. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991; 88: 8198-8202. Estudio del cromosoma X en individuos portadores de las mutaciones mitocondriales de la NOHL.

Carelli V, Achilli A, Valentino ML, Rengo C, Semino O, Pala M, et al. Haplogroup effects and recombination of mitochondrial DNA: novel clues from the analysis of Leber hereditary optic neuropathy pedigrees. *Am J Hum Genet*. 2006; 78: 564-574. Estudio de individuos con la NOHL en relación con los posibles haplogrupos que presentan.

Carelli V, La Morgia C, Valentino ML, Rizzo G, Carbonelli M, De Negri AM, et al. Idebenone treatment in Leber's hereditary optic neuropathy. *Brain*. 2011; 134: e188. Efectos de la idebenona en individuos con las diferentes mutaciones mitocondriales.

Carelli V, Ross-Cisneros FN, Sadun AA. Mitochondrial dysfunction as a cause of optic neuropathies. *Prog Retin Eye Res.* 2004; 23: 53-89. Relación de una disfunción mitocondrial y neuropatías ópticas, procesos que dan lugar a una disminución de la actividad mitocondrial.

Cruz-Bermúdez A, Vicente-Blanco RJ, Hernández-Sierra R, Montero M, Álvarez J, González M, et al. Functional characterization of three concomitant mtDNA LHON mutations shows no synergistic effect on mitochondrial activity. *Plos One.* 2016; 11(1): 1-19. Estudio referente al posible efecto sinérgico en la actividad mitocondrial en el caso de co-existir varias mutaciones.

Di Mauro S, Schon EA, Carelli V, Hirano M. The clinical maze of mitochondrial neurology. *Nat Rev Neurol.* 2013; 9(8): 429-444. Diferentes enfermedades relacionadas con un defecto mitocondrial.

Dimitriadis K, Leonhardt M, Yu-Wai-Man P, Kirkman MA, Korsten A, De Coo IF, et al. Leber's hereditary optic neuropathy with late disease onset: clinical and molecular characteristics of 20 patients. *Orphanet J Rare Dis.* 2014; 9(158): 1-5. Estudio de diferentes factores que pueden influir en los individuos con la NOHL.

Enns GM, Kinsman SL, Perlman SL, Spicer KM, Abdenur JE, Cohen BH, et al. Initial experience in the treatment of inherited mtDNA disease with EPI-743. *Mol Genet Metab.* 2011; 105: 91-102. Estudio de la eficacia de la molécula EPI-743 en pacientes que padecen alguna enfermedad mitocondrial.

Floreani M, Napoli E, Martinuzzi A, Pantano G, De Riva V, Trevisan R, et al. Antioxidant defences in cybrids harboring mtDNA mutations associated with Leber's hereditary optic neuropathy. *FEBS J.* 2005; 272: 1124-1135. Caracterización de las defensas antioxidantes en las células afectadas por la NOHL.

Fraser JA, Biousse V, Newman NJ. The neuro-ophthalmology of mitochondrial disease. *Surv of Ophthalmol.* 2010; 55: 299-334. Disfunciones del ADN nuclear y mitocondrial que influyen en el desarrollo de diferentes enfermedades.

Geromel V, Darin N, Chrétien D, Bénit P, De Lonlay P, Rötig A, et al. Coenzyme Q (10) and idebenone in the therapy of respiratory chain diseases: rationale and comparative benefits. *Mol Genet Metab.* 2002; 77: 21-30. Descripción de la molécula de CoQ y análogos y sus posibles usos como terapia en enfermedades que afectan a la cadena respiratoria mitocondrial.

Giordano C, Montopoli M, Perli E, Orlandi M, Fantin M, Ross-Cisneros FN, et al. Oestrogens ameliorate mitochondrial dysfunction in Leber's hereditary optic neuropathy. *Brain*. 2011; 134(1): 220–234. Estudio del uso de derivados estrogénicos como posible terapia en la NOHL.

Giorgio V, Petronilli V, Ghelli A, Carelli V, Rugolo M, Lenaz G, et al. The effects of idebenone on mitochondrial bioenergetics. *Biochim Biophys Acta*. 2012; 1817: 363-369. Estudio del efecto de derivados de quinonas en la mejora de la actividad mitocondrial.

Giraudet S, Lamirel C, Amati-Bonneau P, Reynier P, Bonneau D, Miléa D, et al. Never too old to harbour a young man's disease? *Br J Ophthalmol*. 2011; 95: 887-896. Caso descrito de un individuo superior a los 80 años de edad que manifiesta los inicios de la enfermedad de NOHL.

Gómez-Durán A, Pacheu-Grau D, López-Gallardo E, Díez-Sánchez C, Montoya J, López-Pérez MJ, et al. Unmasking the causes of multifactorial disorders: OXPHOS differences between mitochondrial haplogroups. *Human Molecular Genetics*. 2010; 19(17): 3343-3353. Diferencias en la actividad mitocondrial según las diferentes variantes genéticas en el ADNmt.

Gómez-Durán A, Pacheu-Grau D, Martínez-Romero I, López-Gallardo E, López-Pérez MJ, Montoya J, et al. Oxidative phosphorylation differences between mitochondrial DNA haplogroups modify the risk of Leber's hereditary optic neuropathy. *Biochim Biophys Acta*. 2012; 1822(8): 1216-1222. Diferentes consecuencias en OXPHOS en la NOHL según el haplogrupo asociado.

Guy J, Qi X, Koilkonda RD, Arguello T, Chou TH, Ruggeri M, et al. Efficiency and safety of AAV-mediated gene delivery of the human ND4 complex I subunit in the mouse visual system. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009; 50: 4205-4214. Evaluación de AAV en relación con la terapia en la NOHL.

Harding A, Sweeney M, Miller D, Mumford CJ, Kellar-Wood H, Menard D, et al. Occurrence of a multiple sclerosis-like illness in women who have a Leber's hereditary optic neuropathy mitochondrial DNA mutation. *Brain*. 1992; 115(4): 979-989. Descripción de otra manifestación posible relacionada con mutaciones asociadas a la NOHL.

Hayashi G, Cortopassi G. Oxidative stress in inherited mitochondrial diseases. *Free Radical Biology and Medicine*. 2015; 88: 10-17. Patomecanismo del estrés oxidativo en cinco enfermedades mitocondriales.

Hudson G, Carelli V, Spruijt L, Gerards M, Mowbray C, Achilli A, et al. Clinical expression of Leber hereditary optic neuropathy is affected by the mitochondrial DNA-haplogroup

background. *Am J Hum Genet.* 2007; 81(2): 228-233. Manifestación de la enfermedad en relación con las mutaciones en el ADNmt y los distintos haplogrupos.

Hudson G, Keers S, Yu-Wai-Man P, Griffiths P, Huoponen K, Savontaus ML, et al. Identification of an X-chromosomal locus and haplotype modulating the phenotype of a mitochondrial DNA disorder. *Am J Hum Genet.* 2005; 77: 1086-1091. Estudio sobre un haplotipo del cromosoma X en relación con mutaciones en el ADNmt que producen defectos en la capacidad visual.

Jenuth J, Peterson A, Shoubridge E. Tissue-specific selection for different mtDNA genotypes in heteroplasmic mice. *Nat Genet.* 1997; 16: 93-95. Estudio de la secuencia de ADNmt en diferentes tejidos.

Ji YL, Jia XY, Li SQ, Xiao XS, Guo XM, Zhang QJ. Evaluation of the X-linked modifier loci for Leber hereditary optic neuropathy with the G11778A mutation in Chinese. *Mol Vis.* 2010; 16: 416-424. Estudio de la población china para evaluar la posible presencia de un cromosoma X que intervenga en la manifestación de la NOHL.

Ji YL, Zhang AM, Jia XY, Zhang YP, Xiao XS, Li SQ, et al. Mitochondrial DNA haplogroups M7b1'2 and M8a affect clinical expression of Leber hereditary optic neuropathy in chinese families with the m.11778G→A mutation. *Am J of Hum Genet.* 2008; 83: 760-768. Estudio de diferentes haplogrupos en relación con algunas mutaciones de ADNmt que afectan a la cadena respiratoria.

Kirkman MA, Yu-Wai-Man P, Korsten A, Leonhardt M, Dimitriadis K, De Coo IF, et al. Gene-environment interactions in Leber hereditary optic neuropathy. *Brain.* 2009; 132: 2317-2326. Otros factores, a parte de las mutaciones mitocondriales, que guardan relación con la manifestación de la NOHL.

Klopstock T, Yu-Wai-Man P, Dimitriadis K, Rouleau J, Heck S, Beilie M, et al. A randomized placebo-controlled trial of idebenone in Leber's hereditary optic neuropathy. *Brain.* 2011; 134: 2677-2686. Estudio de la eficacia de la idebenona como tratamiento terapéutico en la NOHL.

La Morgia C, Carbonelli M, Barboni P, Sadun AA, Carelli V. Medical management of hereditary optic neuropathies. *Front in neurol.* 2014; 5(141): 1-7. Hechos clínicos y manifestación de las neuropatías ópticas hereditarias con disfunción mitocondrial.

Leber T. Ueber hereditäre und congenital-angelegte Sehnervenleiden [About hereditary and congenital optic nerve disorders]. *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol.* 1871; 17: 249-291. Primera descripción un caso de NOHL.

Manusco M, Filosto M, Orsucci D, Siciliano G. Mitochondrial DNA sequence variation and neurodegeneration. *Hum Genomics*. 2008; 3(1): 71-78. Enfermedades neurodegenerativas y el papel de los haplogrupos mitocondriales en dichas enfermedades.

Maresca A, La Morgia C, Caporali L, Valentino ML, Carelli V. The optic nerve: A “mito-window” on mitochondrial neurodegeneration. *Mol Cell Neurosci*. 2013; 55: 62-76. Papel de las funciones mitocondriales alteradas en enfermedades que tienen disminuida la función mitocondrial.

McFarland R, Turnbull DM. Batteries not included: diagnosis and management of mitochondrial disease. *J Intern Med*. 2009; 265: 210-228. Enfermedades mitocondriales que directa o indirectamente tienen un papel en la alteración de la OXPHOS.

Meyerson C, Van Stavern G, McClelland C. Leber hereditary optic neuropathy: current perspectives. *Clin Ophthalmol*. 2015; 9: 1165-1176. Trabajo sobre los mecanismos que desarrollan la NOHL así como las terapias investigadas en relación con la enfermedad.

MITOMAP. Genome database of polymorphisms and mutations of the human mitochondrial DNA [en línea]. [Consultado en Junio 2016]. Disponible en: <http://www.mitomap.org>

Newman NJ. Hereditary optic neuropathies: from the mitochondria to the optic nerve. *Am J Ophthalmol*. 2005; 140: 517-523. Nuevos conocimientos sobre neuropatías ópticas y los avances en las estrategias terapéuticas encaminadas a tratar dichas enfermedades.

Pisano A, Preziuso C, Iommarini L, Perli E, Grazioli P, Campese AF, et al. Targeting estrogen receptor β as preventive therapeutic strategy for Leber's hereditary optic neuropathy. *Hum Mol Genet*. 2015; 24(24): 6921-6931. Estudio sobre el posible efecto terapéutico de los estrógenos en la enfermedad antes del comienzo de los síntomas.

PUBMED. US National Library of Medicine. National Institutes of Health [en línea]. [Consultado en Junio 2016]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

Puomila A, Hämäläinen P, Kivioja S, Savontaus ML, Koivumäki S, Huoponen K, et al. Epidemiology and penetrance of Leber hereditary optic neuropathy in Finland. *Eur J Hum Genet*. 2007; 15: 1079-1089. Estudio sobre la prevalencia de la NOHL en la población finlandesa.

Sadun AA, Chicani CF, Ross-Cisneros FN, Barboni P, Thoolen M, Shrader WD, et al. Effect of EPI-743 on the clinical course of the mitochondrial disease Leber hereditary optic neuropathy. *Arch*

Neurol. 2012; 69: 331-338. Estudio sobre el efecto de la nueva molécula EPI-743 como estrategia terapéutica en la NOHL.

Shankar SP, Fingert JH, Carelli V, Valentino ML, King TM, Daiger SP, et al. Evidence for a novel X-linked modifier locus for Leber hereditary optic neuropathy. *Ophthalmic Genet.* 2008; 29: 17-24. Estudio, en una familia brasileña con largo historial de NOHL, de la posible presencia de un cromosoma X que afecte a la diferente manifestación de la enfermedad.

Spruijt L, Kolbach DN, de Coo RF, Plomp AS, Bauer NJ, Smeets HJ, et al. Influence of mutation type on clinical expression of Leber hereditary optic neuropathy. *Am J Ophthalmol.* 2006; 141: 676-682. Estudio de diferentes factores moleculares que afectan a la expresión clínica de la NOHL.

Torrioni A, Wallace DC. Mitochondrial DNA variation in human populations and implications for detection of mitochondrial DNA mutations of pathological significance. *J Bioenerg Biomembr.* 1994; 6(3): 261-271. Estudio sobre los haplogrupos y sus tipos dentro de las poblaciones.

Wallace DC, Singh G, Lott MT, Hodge JA, Schurr TG, Lezza AM, et al. Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy. *Sci.* 1988; 242: 1427-1430. Descripción de la primera mutación relacionada con la NOHL que produce un cambio en el ADNmt.

WEB OF SCIENCE. The world's most trusted citation index covering the leading scholarly literature [en línea]. [Consultado en Junio 2016]. Disponible en: <http://apps.webofknowledge.com>

Wiggs JL. Mitochondrial genetics and optic neuropathy. *Annu Rev Vis Sci.* 2015; 1: 97-124. Procesos mitocondriales defectuosos que producen distintas enfermedades y las investigaciones terapéuticas relacionadas con el tratamiento de dichas enfermedades.

Yen MY, Kao SH, Wang AG, Wei YH. Increased 8-hydroxy-2'- deoxyguanosine in leukocyte DNA in Leber's hereditary optic neuropathy. *Invest Ophthalmol Visual Sci.* 2004; 45: 1688-1691. Estudio sobre la implicación del estrés oxidativo en la NOHL.

Yu-Wai-Man P, Griffiths P, Brown D. The epidemiology of Leber hereditary optic neuropathy in the North East of England. *Am J Hum Genet.* 2003; 15: 1079-1089. Estudio de la prevalencia de la NOHL en la población del noreste de Inglaterra.

Yu-Wai-Man P, Griffiths PG, Hudson G, Chinnery PF. Inherited mitochondrial optic neuropathies. *J Med Genet.* 2009; 46: 145-158. Neuropatías ópticas como resultado de una disfunción mitocondrial.

Yu-Wai-Man P, Griffiths PG, Hudson G, Chinnery PF. Mitochondrial optic neuropathies-Disease mechanism and therapeutic strategies. *Progress in retinal and Eye Research.* 2011; 30: 81-114. Estudio de las enfermedades relacionadas con un defecto mitocondrial, así como sus posibles estrategias terapéuticas.

Zickermann V, Drose S, Tocilescu MA, Zwicker K, Kerscher S, Brandt U. Challenges in elucidating structure and mechanism of proton pumping NADH: ubiquinone oxidoreductase (complex I). *J Bioenerg Biomembr.* 2008; 40(5): 475-483. Actividad del complejo I de la mitocondria en la función respiratoria.

Zeviani M, Di Donato S. Mitochondrial disorders. *Brain.* 2004; 127(10): 2153-2172. Enfermedades genéticas que afectan al ADNmt y nuclear produciendo una disfunción en la OXPHOS.