

GUSTAVO CASTRO DE FREITAS

**ATUALIZAÇÃO SOBRE A NEUROPATIA ÓPTICA HEREDITÁRIA DE
LEBER**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado a Escola Superior de
Ciências da Santa Casa de
Misericórdia de Vitória –
EMESCAM, como requisito parcial
para obtenção do grau de médico.
Orientadora: Flávia Imbroisi
Valle Errera

VITÓRIA-ES
2012

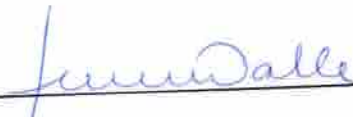
GUSTAVO CASTRO DE FREITAS

ATUALIZAÇÃO SOBRE A NEUROPATIA ÓPTICA HEREDITÁRIA DE LEBER

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Medicina da Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória – EMESCAM, como requisito parcial para obtenção do grau de médico.

Aprovada em 28 de novembro de 20 12

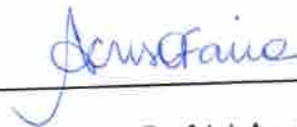
COMISSÃO EXAMINADORA



Prof.(a) Flávia Imbroisi Valle Errera
Escola Superior de Ciências da Santa Casa de
Misericórdia de Vitória – EMESCAM
Orientador(a)



Prof.(a) Marcela Souza Lima Paulo
Programa de Pós-graduação em Cirurgia da UFMG



Prof.(a) Agatha Cristhina Oliveira Faria
Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da UFES

VITÓRIA-ES
2012

Aos meus avós maternos Carlos Ribeiro de Castro e Eny Miranda de Castro (*in
memorian*)

AGRADECIMENTOS

A Professora Flávia Errera, pela paciência e suporte técnico, sem a qual a realização deste trabalho seria impossível. E as demais componentes da banca examinadora: Marcela Souza Lima Paulo e Agatha Cristhina Oliveira Faria pelo apoio e disponibilidade. Muito Obrigado!

O primeiro pecado da humanidade foi a fé, a primeira virtude foi a dúvida.

Carl Sagan

RESUMO

Esta revisão bibliográfica visa descrever os principais aspectos da neuropatia óptica hereditária de Leber (NOHL), uma doença caracterizada pela perda da visão em decorrência de um defeito na síntese de ATP na cadeia respiratória que desencadeia um processo degenerativo no nervo óptico. A NOHL foi a primeira doença comprovadamente causada por mutação no DNA mitocondrial (DNAmit). O primeiro enfoque é dado ao histórico dos achados científicos que sustentam o atual entendimento dessa doença mitocondrial e aos seus dados epidemiológicos como risco, prevalência, sexo e faixa etária. Uma breve revisão bioquímica e fisiológica a respeito dos processos que levam ao estresse oxidativo causador da degeneração e apoptose das células ganglionares da retina (CGR) possibilita a compreensão do efeito e a repercussão das mutações na doença. Para tanto, foram apresentadas as mutações patogênicas, denominadas primárias, e suas interações com outros fatores como: penetrância incompleta, haplogrupos, heteroplasmia, fatores genéticos autossômicos, fatores hormonais e ambientais, os quais tem a capacidade de modular a expressão fenotípica na NOHL. A evolução clínica dos pacientes acometidos passa inicialmente por uma fase assintomática, porém ao surgirem os primeiros sintomas a evolução é aguda, e após seis meses atinge a fase crônica, marcada pela atrofia óptica. Em alguns casos a NOHL não consiste na única manifestação clínica. Mais recentemente, outras manifestações clínicas associadas têm sido mais exploradas, auxiliando na expansão do fenótipo. Com base nesses conhecimentos, o diagnóstico se baseia na abordagem clínica aliada a história familiar e testes de DNA, os quais devem ser complementados pelo aconselhamento genético. Apesar da falta de tratamentos curativos, pesquisas em intervenções farmacológicas têm sido desenvolvidas para prevenir ou evitar a progressão da perda visual nos indivíduos afetados.

Palavras-chave: Doença mitocondrial. Neuropatia óptica hereditária. DNA mitocondrial. Mutações de ponto.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
1.1 OBJETIVOS.....	12
1.1.1 Objetivo Geral.....	12
1.1.2 Objetivos Específicos.....	12
1.2 METODOLOGIA.....	13
1.3 JUSTIFICATIVA.....	14
2 NEUROPATIA ÓPTICA HEREDITÁRIA DE LEBER.....	15
2.1 Breve histórico e perfil epidemiológico.....	15
2.2 Aspectos bioquímicos e fisiológicos gerais.....	16
2.3 Bases genéticas.....	18
2.3.1 Mutações do DNAmit na NOHL: uma visão geral.....	18
2.3.2 Penetrância incompleta.....	20
2.3.2.1 Haplogrupos: conceito e sua provável influência na penetrância da NOHL.....	20
2.3.2.2 Heteroplasmia.....	22
2.3.2.3 Fatores genéticos nucleares.....	23
2.3.3 Correlacionando o genótipo ao fenótipo bioquímico.....	24
2.4 Fatores Hormonais e Ambientais.....	24
2.5 Apresentações clínicas, diagnóstico e aconselhamento genético.....	25
2.5.1 Apresentações clínicas.....	25
2.5.1.1 Fase pré-sintomática.....	25
2.5.1.2 Fase Aguda.....	26
2.5.1.3 Fase crônica.....	26
2.5.2 Diagnóstico.....	27
2.5.3 Aconselhamento genético.....	27
2.6 Manifestações clínicas associadas.....	28
2.6.1 Repercussões cardiológicas na NOHL.....	29
2.6.2 Manifestações neurológicas.....	29
2.7 Possíveis tratamentos: perspectivas futuras na NOHL.....	31
3 CONCLUSÃO.....	33
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35

1 INTRODUÇÃO

A neuropatia óptica hereditária de Leber (NOHL), é definida por uma perda aguda ou subaguda da visão que afeta preferencialmente adultos jovens do sexo masculino. Em decorrência de um defeito na cadeia respiratória ocorre a degeneração do nervo óptico, fato que constitui o marco patológico dessa doença.

Há cerca de 20 anos a NOHL foi comprovada como a primeira doença humana causada por mutações de genes do DNA mitocondrial (DNAMit), além de ser considerada hoje a mais comum dentre as doenças mitocondriais. Sob o ponto de vista epidemiológico o Brasil ainda carece de estudos populacionais, entretanto, dados obtidos em estudos realizados em populações caucasianas apontam uma prevalência em torno de 1:40.000.

Diante de um quadro de neuropatia óptica seqüencial, simultânea e/ou bilateral, a NOHL deve fazer parte do diagnóstico diferencial, bem como é de grande valia a investigação e a documentação detalhada da história familiar, já que a doença é transmitida exclusivamente através da linhagem materna. Os defeitos bioquímicos na cadeia respiratória resultam em uma deficiência parcial na fosforilação oxidativa, e são causados por mutações de ponto no DNAMit. A doença depende da presença de mutações patogênicas, denominadas primárias, porém, a penetrância dessas mutações é incompleta, uma vez que dentre os indivíduos afetados, 50% são homens e apenas 10% são mulheres, indicando uma predileção pelo sexo masculino. Fatores genéticos mitocondriais como os haplogrupos e a heteroplasmia; fatores genéticos nucleares; fatores hormonais e ambientais podem modular a expressão fenotípica da NOHL.

Os pacientes passam no início por uma fase pré-sintomática, na qual apenas achados propedêuticos podem levantar alguma suspeita diagnóstica quando ainda não há uma história familiar detalhada, e por uma fase aguda caracterizada pela turvação visual com diminuição da acuidade, escotomas centrais, comprometimento precoce na percepção de cores, porém, sem sintomatologia dolorosa. A fase crônica é marcada pela atrofia óptica, e raros casos de restabelecimento da visão foram observados. O diagnóstico é conduzido por testes genéticos que identifiquem uma das mutações primárias associados a uma abordagem clínica adequada e a uma história familiar bem documentada.

O esclarecimento sobre a transmissão exclusivamente materna, bem como os fatores idade e sexo são as bases do aconselhamento genético. Além disso, algumas manifestações clínicas associadas podem ocorrer concomitantemente com a NOHL, como: arritmias cardíacas e anormalidades neurológicas. Embora seja ainda incurável, a doença é hoje contemplada com duas frentes de pesquisas experimentais que sugerem intervenções terapêuticas capazes de desacelerar seu curso patológico: a terapia gênica e o uso farmacológico de antioxidantes.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral:

Revisão ampla dos principais aspectos da neuropatia óptica hereditária de Leber.

1.1.2 Objetivo Específico:

Descrever a neuropatia óptica hereditária de Leber no contexto das doenças mitocondriais, analisando seu histórico, epidemiologia, aspectos bioquímicos e fisiológicos, suas bases genéticas e fatores capazes de influenciar a penetrância da doença, as manifestações clínicas e associações sindrômicas, as abordagens diagnósticas, aconselhamento genético e as perspectivas terapêuticas futuras, relacionando as mutações envolvidas com os fenótipos da doença.

1.2 METODOLOGIA

Revisão bibliográfica feita mediante busca sistemática de artigos e publicações indexados na biblioteca virtual PubMed, sem restrição de data, através da utilização dos unitermos: *mitochondrial disease*, *LHON*, *optic neuropathy*, *mitochondrial DNA mutations*, bem como a consulta de livros didáticos para melhor suporte teórico conforme a tabela abaixo.

Artigos Originais	98
Artigos de Revisão	5
Livros Didáticos	1

1.3 JUSTIFICATIVA

A neuropatia óptica hereditária de Leber resulta em morbidade visual significativa entre adultos jovens, causando cegueira. Como os mecanismos genéticos da doença foram descobertos há pouco mais de duas décadas, é importante a busca de dados atuais que melhor esclareçam o fenótipo.

2 NEUROPATIA ÓPTICA HEREDITÁRIA DE LEBER

2.1 BREVE HISTÓRICO E PERFIL EPIDEMIOLÓGICO

Por definição a neuropatia óptica hereditária de Leber (NOHL) é caracterizada pela perda bilateral aguda ou subaguda da visão central, causada por um defeito na cadeia respiratória que leva à degeneração do nervo óptico, afetando em sua maioria adultos jovens do sexo masculino, tendo como idade média de início entre 18 e 35 anos (HOUSHMAND et al., 2006; KUMAR et al., 2010). Embora von Graefe tenha relatado há mais de 150 anos a primeira descrição de um paciente acometido pela NOHL, foi Theodor Leber que a descreveu pela primeira vez como entidade clínica em 1871, após relatar um padrão característico de perda visual em membros de uma mesma família (YU-WAI-MAN et al., 2009).

Esses primeiros estudos elucidaram as principais apresentações da NOHL, incluindo: a transmissão exclusivamente materna da doença, a predileção por homens na perda da visão - levando por esse motivo a NOHL ser considerada por muitos anos uma doença ligada ao cromossomo X - e, além do quase exclusivo envolvimento do nervo óptico (ERICKSON, 1972). O padrão não-Mendeliano de herança foi totalmente explicado somente em 1988 quando Douglas C. Wallace e colaboradores descobriram a primeira mutação do DNA mitocondrial (DNAmit) associada a NOHL, tornando-a a primeira doença humana comprovadamente causada por uma mutação de ponto no genoma mitocondrial (WALLACE et al., 1988).

Com uma prevalência estimada de 1:10000 no Reino Unido e um risco de 1:200 em indivíduos portadores de mutações, as desordens mitocondriais são uma grande causa de doenças crônicas em humanos (SCHAEFER et al., 2008; ELLIOTT et al., 2008). Dentre essas desordens, a NOHL constitui a mais comum das doenças primárias do DNAmit, apresentando risco de perda visual em 1:8500 dos portadores e uma prevalência mínima de 1:31000 indivíduos afetados no Nordeste da Inglaterra (MAN et al., 2003). Um espectro epidemiológico semelhante foi relatado em outras populações caucasianas, com prevalência de NOHL de 1:39000 na Holanda e 1:50000 na Finlândia (SPRUIJT et al., 2006; PUOMILA et al., 2007). Ao passo que na Austrália é também relatado que são acometidos pela NOHL cerca de 2% das

peças com algum comprometimento visual entre os inscritos nos registros de cegos.

É importante salientar, a despeito da idade e especialmente em pacientes homens, que todos os casos de neuropatia óptica seqüencial, simultânea e/ou bilateral devem considerar a NOHL como parte do diagnóstico diferencial, uma vez que a deterioração visual pode ocorrer tanto na primeira quanto durante a 70ª década de vida. Entretanto, 95% dos portadores vivenciarão algum dano visual antes dos 50 anos, com pico de idade de início da NOHL entre 15 e 30 anos (YU-WAI-MAN et al., 2009). O início e a gravidade da perda visual inicial não sofrem influência significativa do gênero nem do tipo de mutação (JOHNS et al., 1993; TONSKA et al., 2003). Mesmo que mutações novas sejam raras na NOHL, 40% dos indivíduos afetados relatam não haver história familiar da doença quando são inquiridos a respeito de outros membros da família acometidos. Porém, esses pacientes representam os casos em que há alguma dificuldade na documentação da história familiar, ou mesmo fazem parte de gerações que viveram em épocas quando os critérios diagnósticos da NOHL não eram conhecidos (BIOUSSE et al., 1997; MAN et al., 2003).

Embora alguns autores brasileiros tenham realizado estudos em famílias, ainda não existem estudos populacionais que tracem o cenário epidemiológico da NOHL no Brasil (SADUN et al., 2002).

2.2 ASPECTOS BIOQUÍMICOS E FISIOLÓGICOS GERAIS

Definida como estágio final do metabolismo produtor de energia dos organismos aeróbios, a fosforilação oxidativa fornece a maior parte das demandas celulares de ATP. Isso é alcançado através de uma cadeia de 5 complexos respiratórios multienzimáticos situados na membrana interna das mitocôndrias, responsáveis pelo transporte de elétrons que reduzirão o O_2 a H_2O (LEHNINGER, 2006).

O complexo I possui o nucleotídeo de nicotinamida (NADH) associado a outro transportador de elétrons denominado ubiquinona. Essa associação recebe o nome de NADH desidrogenase. O complexo II possui a única enzima do ciclo de Krebs ligada à membrana, a succinato desidrogenase, formada pela associação do succinato com a ubiquinona. O complexo III é formado por ubiquinona e pelo

citocromo B. Por fim, o complexo IV transporta dois elétrons para o oxigênio molecular, reduzindo-o a H_2O . Esse gradiente eletroquímico gerado ao longo da membrana mitocondrial interna é utilizado pelo complexo V – denominado ATP sintase – que catalisa a conversão da adenosina difosfato (ADP) e do fosfato inorgânico em ATP (LEHNINGER, 2006; YU-WAI-MAN, GRIFFITHS E CHINNERY, 2011).

Essa redução quando gera intermediários incompletamente reduzidos e muito reativos (radicais livres), danifica os componentes celulares caso esses radicais não sejam inativados por enzimas protetoras, que os mantém fortemente ligados aos complexos até completarem a redução. Dentre os componentes celulares danificados pelos radicais livres formados estão enzimas, lipídeos de membrana e ácidos nucleicos (LEHNINGER, 2006).

O estresse oxidativo, os radicais livres e a privação de fatores de crescimento são sinais que ativam a família de proteínas bcl-2, responsáveis pela formação de uma área na membrana mitocondrial conhecida como poros de transição de permeabilidade (PTP). As mitocôndrias desempenham um importante papel na regulação da morte celular programada, uma vez que contêm proteínas pró-apoptóticas - como o fator de indução da apoptose (FIA), Smac/DIABLO e o citocromo C - capazes de evadirem a organela, mediante os sinais mencionados, através dos PTP. Esse aumento de permeabilidade ocorre pela ligação do ligante-Fas ao receptor-Fas na membrana mitocondrial externa, que promove a clivagem da caspase 8. A caspase 8 então cliva a proteína Bid (uma das proteínas bcl-2) possibilitando a sua translocação para a membrana mitocondrial externa e a formação dos PTP, liberando para o citoplasma o citocromo C. No citoplasma, o citocromo C ligado a proteína citosólica Apaf-1 causa a amplificação do sinal apoptótico pela ativação da cascata da caspase através da caspase 3 e 9. De acordo com fortes evidências, o óxido nítrico também é capaz de perpetuar o processo dissipando potenciais de membrana, tornando a mitocôndria ainda mais permeável (TONSKA et al., 2003; LEHNINGER, 2006; ABU-AMERO, 2011).

Conseqüentemente, após os eventos bioquímicos supracitados, ocorrem alterações celulares incluindo: turgência das organelas, perda da adesividade e da assimetria da membrana celular, enrugamento celular, fragmentação nuclear, condensação da cromatina, e intensa fragmentação do DNA cromossômico (ABU-AMERO, 2011).

A presença de mitocôndrias parcialmente deficientes na transferência de elétrons do NADH para ubiquinona - complexo I - e o papel regulador desse complexo na abertura dos PTP são as principais apresentações bioquímicas na NOHL (TONSKA et al., 2003). E mesmo que a cadeia respiratória produza alguma quantidade de ATP pela via do succinato (complexo II), a produção não supre de forma eficaz as altas demandas que o metabolismo muito ativo dos neurônios exige.

As altas concentrações de mitocôndrias no disco óptico justificam a importância dessa organela em manter as funções normais do nervo óptico. Seus axônios possuem um padrão assimétrico de mielinização, o que representaria implicações funcionais na demanda energética e na distribuição de mitocôndrias nas diferentes partes do nervo. A perda visual em pacientes afetados pela NOHL decorre da morte das células ganglionares da retina (CGR), que são responsáveis por integrarem os sinais tanto da sensibilidade luminosa dos bastonetes quanto da capacidade de discriminar cores dos cones. Ao longo do nervo óptico os axônios das CGR realizam a transdução desses sinais até o córtex visual no cérebro (ABU-AMERO, 2011). A apoptose seletiva das CGR é causada por mutações de ponto do DNAmít, resultando em genes que codificam transportadores de elétrons da cadeia respiratória defeituosos (LEHNINGER, 2006).

2.3 BASES GENÉTICAS

2.3.1 Mutações do DNAmít na NOHL: uma visão geral

O complexo NADH desidrogenase é constituído por 42 cadeias de polipeptídeos, das quais sete delas são codificadas por genes mitocondriais. Todas as mutações mitocondriais conhecidas como causadoras da NOHL estão mapeadas em genes codificadores de subunidades do complexo I da cadeia respiratória - NADH desidrogenase - porém, poucas mutações em outros genes codificadores de proteínas estão provavelmente envolvidas (ex. CO3, ATP6, Cytb). As três mutações mais frequentes são: G3460A no gene ND1, G11778A no gene ND4 e T14484C no gene ND6. Juntas elas são responsáveis por cerca de 90% dos casos de NOHL (YU-WAI-MAN et al., 2009).

Essas três substituições dos nucleotídeos do DNAmít são chamadas mutações primárias, pois mesmo quando ocorrem isoladamente provocam lesão no

nervo óptico (ABU-AMERO, 2011). Por outro lado, de acordo com o OMIM, as mutações primárias podem ser divididas em brandas e graves. Sendo as últimas relacionadas a uma perda rápida e completa da visão, ao passo que pacientes que desenvolvem NOHL em consequência de mutações brandas podem conservar percepção de luz e o curso da doença pode ser mais lento. Considerando as três mutações mais frequentes, a G11778A é a mais grave e a mais comum, responsável por cerca de 50% dos casos de NOHL na Europa e 95% na Ásia. Em seguida a mutação G3460A é responsável por cerca de 35% dos casos europeus. A mutação menos grave é a T14484C, diagnosticada em aproximadamente 20% dos pacientes europeus. Em populações caucasianas a mutação G11778A é diagnosticada em 69%, G3460A em 13% e T14484C em 14% dos pacientes (OMIM).

Além das três mutações mais frequentes, seis outras, também consideradas como primárias, foram detectadas no gene ND6, sugerindo grande importância dessa subunidade para o complexo I da cadeia respiratória (CHINNERY et al., 2001a). Há relatos de um grande número de mutações patogênicas variantes do DNAmít na NOHL, e outras ainda aguardam confirmação de patogenicidade, pois foram identificadas em apenas algumas famílias (TAYLOR et al., 2003).

Em contrapartida, variantes polimórficas do DNAmít mostraram-se capazes de influenciar a penetrância e expressão clínica das mutações primárias (YU-WAI-MAN, GRIFFITHS E CHINNERY, 2011). Ainda não foi esclarecido o papel patológico dessas variantes, denominadas mutações secundárias da NOHL. Entretanto, sabe-se que elas não são capazes de causar a NOHL quando ocorrem isoladamente, mas em genealogias europeias, a presença dessas mutações somadas a uma das mutações primárias parece ser crucial para o desenvolvimento da doença (CHINNERY et al., 1999; BROWN et al., 2002). Contudo, a presença de duas mutações secundárias, T4216C e G13708A, não causa prejuízo adicional ao metabolismo mitocondrial do oxigênio em células portadoras da mutação G11778A (LODI et al., 2000). Elas poderiam influenciar a progressão da doença ou apenas serem marcadores de um haplogrupo polimórfico – definido como um marcador de uma linhagem ancestral comum (NIKOSKELAINEN et al., 1996).

Além dos marcadores polimórficos do DNAmít que constituem os haplogrupos, outros fatores genéticos mitocondriais e nucleares influenciam na penetrância incompleta da NOHL.

2.3.2 Penetrância incompleta

A penetrância incompleta e a predileção do gênero são características marcantes na predisposição de desenvolver a doença. Cerca de 50% dos homens e 10% das mulheres portadoras de uma das três mutações primárias sofrem com a perda da visão em alguma época de suas vidas, desenvolvendo a NOHL. A porcentagem de indivíduos acometidos chega aos 80% dos homens portadores na população finlandesa. Essa penetrância incompleta e a predileção por homens na perda da visão sugere que outros fatores genéticos e/ou ambientais possam também modular a expressão fenotípica da NOHL. A presença de uma das mutações primárias será sempre um pré-requisito, porém certamente há fatores secundários influenciando o risco de perda da visão.

Um maior número de homens afetados poderia também ser explicado pelo resultado de uma combinação de diferenças anatômicas, hormonais e fisiológicas entre homens e mulheres. As evidências mostram um modelo complexo da doença, em que tanto fatores genéticos, como haplogrupos, heteroplasmia e genes nucleares; quanto fatores hormonais e ambientais, interagem entre si para antecipar a disfunção no nervo óptico (CARELLI et al., 2007; YU-WAI-MAN et al., 2009; TONSKA et al., 2010).

2.3.2.1 Haplogrupos: conceito e sua provável influência na penetrância da NOHL

O genoma mitocondrial acumula mutações em uma taxa significativamente mais rápida quando comparado ao genoma nuclear. Dentre os fatores que contribuem para essa taxa de mutação maior estão: a ausência de histonas protetoras, a falta de mecanismos efetivos de reparo de DNAmít, a alta taxa de replicação do DNAmít aumentando a probabilidade de erros, e a proximidade das moléculas de DNAmít em relação aos complexos da cadeia respiratória, onde acabam sendo expostas a altos níveis de espécies reativas de oxigênio (ERO) (YU-WAI-MAN, GRIFFITHS E CHINNERY, 2011). Porém a taxa de mutação varia entre diferentes regiões do DNAmít, sendo mais intensa nas 2 regiões hipervariáveis (RHV I e II) do D-loop, onde se estima ocorrerem mutações a cada 30 gerações maternas (PARSONS et al., 1997; SIGUROARDOTTIR et al., 2000).

Isso faz com que o DNAmít seja altamente polimórfico, ao passo que durante a evolução humana, um número de sequências variantes relativamente benignas estabeleceram-se em diferentes populações. Como o DNAmít é herdado da mãe, esses polimorfismos acumularam-se ao longo da irradiação das linhagens femininas de acordo com o padrão da migração humana da África até os demais continentes há aproximadamente 150.000 anos (CANN, 2001). A árvore filogenética humana contém 18 haplogrupos principais do DNAmít, definidos por combinações de várias substituições polimórficas dentro do genoma mitocondrial, que totalizam cerca de 497 polimorfismos variantes (YU-WAI-MAN, GRIFFITHS E CHINNERY, 2011).

Indivíduos com ancestralidade europeia pertencem a um dos haplogrupos e seguir: H, I, J, K, T, U, V, W e X, sendo o haplogrupo H presente em metade de todos os casos. Em uma metanálise de 159 famílias com NOHL, havia um risco significativamente aumentado de perda da visão quando as mutações m.11778G>A e m.14484T>C ocorriam em indivíduos pertencentes ao haplogrupo J, ao passo que portadores da mutação m.3460G>A são mais susceptíveis caso pertençam ao haplogrupo K (HUDSON et al., 2007). Um fator de proteção foi identificado no haplogrupo H, porém apenas em portadores da mutação m.11778G>A.

Os haplogrupos H, J e K estão envolvidos em substituições polimórficas distintas no gene codificador do citocromo B (MT-CYB), responsável pela única subunidade formadora do complexo III codificada por um gene do DNAmít. Dados experimentais recentes sugerem que os cinco complexos formem na verdade supercomplexos estáveis da cadeia respiratória (DUDKINA et al., 2005; CARELLI et al., 2006; HUDSON et al., 2007).

Embora seja conveniente estudá-los e visualizá-los como entidades separadas, os complexos mitocondriais da cadeia respiratória não funcionam isoladamente, e sim interagem em proximidade física uns com os outros, formando os assim chamados supercomplexos (DUDKINA et al., 2010). A síntese alterada pela substituição de aminoácidos dentro do citocromo B influenciaria o risco de perda da visão uma vez que modularia as consequências bioquímicas das mutações primárias, já que, por exemplo, um monômero do complexo I interage fisicamente com um dímero do complexo III. Apesar de especulativa, as alterações polimórficas supracitadas poderiam induzir mudanças na conformação espacial capazes de afetar o acoplamento e a estabilidade dos supercomplexos, uma vez que certos haplogrupos (H, J e K) possuem frequentemente polimorfismos adicionais em genes

mitocondriais que estão associados a uma menor capacidade na fosforilação oxidativa (DUDKINA et al., 2005; CARELLI et al., 2006; HUDSON et al., 2007; PELLO et al., 2008; KIRCHES, 2011).

O fato de a frequência de alguns halogrupos distinguirem-se entre os grupos étnicos, restringe a importância dada a sua associação com a penetrância da NOHL a regiões geográficas específicas (HUDSON et al., 2007). Entretanto, a ligação entre haplogrupos específicos do DNAmít e o risco de perda da visão na NOHL não é inteiramente compreendida. Um estudo em famílias da NOHL do sudeste asiático portadoras da mutação m.11778G>A não encontrou associação significativa entre polimorfismos específicos do DNAmít e o risco de desenvolver disfunção no nervo óptico (THARAPHAN et al., 2006).

2.3.2.2 Heteroplasmia

Existem cerca de 100 a 10.000 mitocôndrias por célula, cujo número de cópias de DNAmít contidas em cada mitocôndria varia de acordo com demanda metabólica de cada tecido. Um número muito alto de cópias de DNAmít por célula possibilita duas situações: homoplasmia e heteroplasmia.

No estado heteroplásmico, duas ou mais variantes de DNAmít estão presentes numa mesma posição para a codificação de um nucleotídeo específico. A homoplasmia caracteriza-se pela presença de uma única variante de DNAmít contida na mitocôndria (YU-WAI-MAN, GRIFFITHS E CHINNERY, 2011).

A relação entre a carga mutacional e a atividade da cadeia respiratória tem sido extensivamente investigada em diferentes tecidos, e as consequências deletérias de muitas mutações do DNAmít na fosforilação oxidativa tornam-se aparentes quando a proporção de cópias mutantes de DNAmít excedem 60-80% (SHOUBRIDGE et al., 1990; BUA et al., 2006; DURHAM et al., 2007). Existem variações específicas que relacionam os tecidos acometidos às mutações, e embora isso possa contribuir para o padrão de envolvimento do órgão e para a gravidade clínica associada a um defeito específico do DNAmít, o mecanismo molecular é ainda mais complexo (YU-WAI-MAN, GRIFFITHS E CHINNERY, 2011).

Entre os portadores da NOHL, a carga mutacional necessária para desencadear o defeito bioenergético, e conseqüentemente a perda da visão, deve exceder 60% (CHINNERY et al., 2001b). Entretanto, uma penetrância incompleta é

observada entre portadores heteroplásmicos com alta carga mutacional, ao passo que 80% de todas as genealogias da NOHL são homoplásmicas para as mutações primárias do DNAmít. Os portadores heteroplásmicos representam cerca de 10 a 15% dos casos de NOHL, carregando no genoma mitocondrial uma sub-população de alelos selvagens (SMITH et al., 1993; HARDING et al., 1995; MAN et al., 2003).

Chinnery et al. sugerem que a heteroplasmia contribua para a penetrância incompleta da NOHL, pois portadores com carga mutacional inferior a 60% apresentam risco mínimo de perderem a visão (CHINNERY et al., 2001b). Porém, há uma limitação em quantificar o nível de heteroplasmia para uma abordagem pré-sintomática, pois a maioria dos indivíduos afetados pela NOHL são homoplásmicos (YU-WAI-MAN et al., 2009).

2.3.2.3 Fatores genéticos nucleares

Bu e Rotter (1991, 1992) propuseram um modelo de dois loci para a perda da visão na NOHL baseados em uma análise extensiva de 31 famílias, totalizando mais de 1.200 indivíduos, uma vez que a predileção por homens vista na NOHL não pode ser explicada por fatores genéticos mitocondriais (BU et al., 1991, 1992).

O padrão de segregação foi coerente com o gene de susceptibilidade para perda visual localizado no cromossomo X agindo em sinergismo com as mutações primárias do DNAmít para provocar a cegueira em meio aos portadores.

Homens não podem compensar a herança de um alelo de susceptibilidade para perda da visão ligado ao X, já que portadores do sexo masculino possuem apenas um cromossomo X (HUDSON et al., 2007; YU-WAI-MAN, GRIFFITHS E CHINNERY, 2011). Três estudos confirmam uma ligação significativa entre o cromossomo X e a penetrância da NOHL, porém os verdadeiros genes envolvidos ainda não foram identificados. A NOHL torna-se então uma doença ainda mais complexa em relação ao que era considerada, apoiada na influência de modificadores nucleares autossômicos. Em 2010, um estudo realizado em famílias tailandesas mostrou uma associação moderada da NOHL com genes não só no cromossomo X, mas também nos cromossomos 1, 3, 12, 13 e 18 (PHASUKKIJWTANA et al., 2010). Todavia, estudos em populações chinesas não encontraram qualquer diferença entre a presença ou a falta de alelos nucleares que modifiquem o curso da NOHL (ZHANG et al., 2010).

Esses resultados conflituosos sustentam a ideia de que a susceptibilidade determinada por loci em famílias com NOHL geograficamente limitadas pode conferir risco específico para cada grupo étnico, sugerindo um modelo no qual um conjunto de genes de susceptibilidade com distribuição heterogênea de alelos entre esses grupos étnicos possa estar envolvida na doença (KIRCHES, 2011).

2.3.3 Correlacionando o genótipo ao fenótipo bioquímico

Dentre as três mutações primárias, apenas a G3460A (ND1) causou declínio considerável e significativa na atividade da NADH desidrogenase (complexo I) (MAJANDER et al., 1991; HOWELL et al., 1991a; SMITH et al., 1994; CARELLI et al., 1997; BROWN et al., 2000). Em contraste com esses resultados, em muitos estudos nenhum declínio significativo foi observado quando analisadas as mutações nas subunidades ND6 e ND4, as quais correspondem também à grande parte dos casos da NOHL.

Entretanto, em outros relatos foi descrito um pequeno declínio na atividade do complexo I em células com a mutação para a subunidade ND4 em análises estatísticas restritas a não-fumantes (MAJANDER et al., 1991; SMITH et al., 1994; HOFHAUS et al., 1996; CARELLI et al., 1999; BROWN et al., 2000). Isso indica que a influência de fatores ambientais possa ser suficiente para mascarar o efeito da mutação (VERGANI et al., 1995).

Mesmo que os dados enzimáticos sejam heterogêneos e a localização das substituições dos aminoácidos nos três diferentes polipeptídeos (ND1, ND4 e ND6) tenham mecanismos distintos, admite-se que a disfunção na produção energética do complexo I continue sendo o achado comum a todas elas (KIRCHES, 2011).

2.4 FATORES HORMONAIS E AMBIENTAIS

Embora tenha sido dada muita atenção à possíveis modificadores genéticos secundários na NOHL, fatores hormonais podem influenciar a expressão fenotípica. Essa hipótese vem sendo investigada por Giordano et al. (2010) utilizando-se de células artificialmente programadas para carregar as mutações primárias da NOHL, os modelos denominados *cybrids*. Em seu estudo, esses modelos mutantes exibiram níveis elevados de ERO, potenciais de membrana diminuídos nas mitocôndrias,

altas taxas de apoptose e alta fragmentação do maquinário metabólico mitocondrial comparado às células controles. Foi observado nesses modelos que a administração de 17-beta-estradiol atenuou as manifestações patológicas da NOHL, além de aumentar os níveis celulares de enzimas anti-oxidantes e proporcionar maior eficiência à biogênese mitocondrial. A partir desses resultados, o efeito protetor do sexo feminino na penetrância da NOHL foi melhor explicado, sugerindo ainda um possível uso terapêutico de análogos estrogênicos nessa doença (GIORDANO et al., 2010).

Muitos fatores ambientais como, por exemplo: tabagismo, abuso de álcool e o antibiótico etambutol tem sido discutidos por desempenhar algum papel na NOHL. Entretanto, apenas o tabagismo crônico pode ser estatisticamente verificado em relação ao aumento do risco dos portadores das mutações desenvolverem a doença (JOHNS E SADUN, 1994; KIRKMAN et al., 2009).

2.5 APRESENTAÇÕES CLÍNICAS, DIAGNÓSTICO E ACONSELHAMENTO GENÉTICO

2.5.1 Apresentações clínicas

2.5.1.1 Fase pré-sintomática

Anormalidades em fundo de olho como teleangiectasia de vasos em torno do disco óptico e graus variáveis de edema nas camadas de fibras nervosas da retina foram documentadas em alguns portadores assintomáticos.

Utilizando imagens de tomografia de coerência óptica, foi encontrado um espessamento na camada de células nervosas da retina, em uma proporção de portadores da NOHL não-afetados, o que fornece mais evidências que o fascículo papilomacular é particularmente vulnerável nessa doença (SAVINI et al., 2005; QUIROS et al., 2006). Em um teste fisiológico mais detalhado, alguns indivíduos exibiram ainda um comprometimento sutil da função do nervo óptico incluindo perda da visão para cores, afetando mais o sistema vermelho-verde, sensibilidade a contraste reduzida, e parâmetros eletrofisiológicos abaixo do normal (SADUN et al., 2006).

2.5.1.2 Fase Aguda

Portadores de LHON mantêm-se assintomáticos até vivenciarem ofuscamento e turvação da visão em pelo menos um olho. Na maioria dos casos, a disfunção visual é bilateral e o outro olho se torna afetado simultaneamente (25%) ou seqüencialmente (75%), com média de atraso no acometimento do outro olho em torno de 6 a 8 semanas (HARDING et al., 1995). Raros casos de neuropatia óptica unilateral foram relatados, com o outro olho se mantendo livre de acometimento num período de 16 anos de *follow-up* (NIKOSKELAINEN et al., 1996; SUGISAKA et al., 2007).

A acuidade visual atinge o ponto mais baixo entre 4 e 6 semanas após o início da doença e é gravemente reduzida. O campo característico detectado apresenta escotomas centrais arqueados, podendo ser documentados mediante exames oftalmológicos. Outra manifestação clínica inclui o comprometimento precoce da percepção das cores, mas, o reflexo pupilar está preservado e os pacientes usualmente relatam ausência de dor ao movimentar o olho. O exame ocular durante o estágio agudo fornece outras pistas diagnósticas e nos casos clássicos as seguintes anormalidades podem ser notadas: tortuosidades dos vasos da retina; microangiopatia circumpapilar teleangiectásica. Entretanto, em aproximadamente 20% dos casos da NOHL, o disco óptico apresenta-se inteiramente normal durante a fase aguda (NIKOSKELAINEN, 1994a; RIORDAN-EVA E HARDING, 1995).

2.5.1.3 Fase crônica

A camada de fibras nervosas da retina gradualmente se degenera e após seis meses, a atrofia óptica constitui uma manifestação universal. Se um paciente for visto nesse estágio, torna-se muito difícil excluir outra causa compressiva, infiltrativa e inflamatória de uma neuropatia óptica bilateral, especialmente não havendo história materna progressiva da doença. Nesses casos, a neuroimagem das vias visuais anteriores é mandatória enquanto esperam-se os resultados dos testes de DNA (YU-WAI-MAN et al., 2009).

O restabelecimento visual é observado em alguns pacientes mesmo com muitos anos de seguimento após o início da doença, mas as chances de melhora são influenciadas pelo status mutacional do paciente, sendo menores com a

mutação m.11778G>A e maiores com a mutação m.14484T>C. O restabelecimento em parâmetros visuais não está restrito a acuidade visual, mas pode ainda incluir o desenvolvimento de pequenas ilhas de campo normal (fenestrações) dentro dos escotomas ou uma discromatopsia reversa (MACKEY E HOWELL, 1992; STONE et al., 1992; NIKOSKELAINEN et al., 1996).

Os fatores prognósticos positivos para melhora visual são: idade precoce de início (<20 anos); apresentação subaguda com progressão lenta dos déficits visuais; e grande área de superfície de nervo óptico (NIKOSKELAINEN et al., 1996; BARBONI et al., 2006). Contudo, a NOHL é uma doença devastadora, em que a maioria dos pacientes demonstra ausência de melhora funcional e permanece nas condições legais para registro de cegos (YU-WAI-MAN et al., 2009).

2.5.2 Diagnóstico

Uma tentativa diagnóstica na NOHL pode usualmente ser feita em fundamentos clínicos, especialmente se estão presentes as apresentações clínicas clássicas e uma história materna bem esclarecida. O teste genético molecular em amostra sangüínea, de qualquer maneira, mantém o padrão ouro e confirmará que o paciente porta uma das três mutações primárias da doença, com implicações para futuro aconselhamento genético. Se indicado, estudos eletrofisiológicos, incluindo padrões de eletrorretinogramas e potenciais visuais evocados, podem ser realizados para excluir patologia retiniana e confirmar disfunção do nervo óptico (SHERMAN E KLEINER, 1994).

Um eletrocardiograma é também recomendado para excluir a síndrome de pré-excitação que já foi documentada na NOHL, embora seja um achado raro e não exija qualquer intervenção na ausência de sintomas cardíacos (NIKOSKELAINEN, 1994a; RIORDAN-EVA E HARDING, 1995). A tomografia computadorizada e a ressonância nuclear magnética são usualmente normais, porém há relatos de não-aumento do sinal do nervo óptico e distensão da bainha, secundários a um leve edema ou gliose na fase atrófica (YU-WAI-MAN et al., 2009).

2.5.3 Aconselhamento genético

Homens portadores de mutações de ponto no DNAmít podem ser tranqüilizados de que seus filhos não correm o risco de herdarem seu defeito genético. Ao passo que mulheres transmitirão a mutação para toda a sua prole. Em casos de heteroplasmia não é possível prever qual carga mutacional será transmitida, uma vez que ocorrem variações significantes nos níveis de heteroplasmia. Até mesmo o uso da amniocentese ou amostras do vilo coriônico em testes pré-natais são limitados nessa situação, pois a carga mutacional detectada em amniócitos e em outras células do vilo coriônico pode ser discordante de outros tecidos fetais, especialmente aqueles com susceptibilidade maior a mutações de ponto do DNAmít como a camada de CGR (BROWN et al., 2006).

Embora não seja possível prever precisamente se portadores de mutações da NOHL perderão a visão, esses indivíduos podem ser aconselhados com base em dois fatores de risco maiores identificados nessa doença, idade e sexo. Homens portadores possuem cerca de 50% de chance de dano visual comparados com apenas 10% em mulheres portadoras, e muitos pacientes portadores vivenciarão algum déficit visual ao final da adolescência e início de fase adulta. A probabilidade de se tornar afetado decresce com o aumento da idade, e o início das manifestações clínicas visuais é raro acima dos 50 anos de idade.

Os riscos de transmissão de fatores genéticos nucleares seguem os padrões e leis da herança Mendeliana, mas se defeitos nucleares específicos não forem identificados, apenas um risco aproximado pode ser previsto baseado na história familiar. Como resultado da evidente variabilidade fenotípica inter e intra-familiar vistas tanto em neuropatias ópticas hereditárias puras e sindrômicas, o aconselhamento genético para pacientes e suas famílias mantém-se desafiador em termos práticos (YU-WAI-MAN, GRIFFITHS E CHINNERY, 2011).

2.6 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS ASSOCIADAS

Embora a incapacidade visual seja a apresentação que define este desarranjo mitocondrial, arritmias cardíacas e anormalidades neurológicas tais como tremor postural, neuropatia periférica, miopatia inespecífica e distúrbios do movimento tem sido relatados como sintomas comuns na NOHL comparados com controles (BOWER, HAWLEY E MACKAY, 1992; NIKOSKELAINEN et al., 1994b, 1995; MEIRE et al., 1995; MASHIMA et al., 1996).

2.6.1 Repercussões cardiológicas na NOHL

Desde o relato original de Leber em 1871, tem-se suspeitado do envolvimento cardíaco na NOHL, uma vez que alguns pacientes com a doença queixavam-se de palpitações. Um estudo submeteu 24 pacientes diagnosticados com NOHL no Queen Square Hospital em Londres a uma avaliação clínica e ao um estudo eletrocardiográfico. Desses, onze pacientes de uma mesma família eram portadores da mutação DNAm_{it}3460G>A. Oito pacientes, incluindo dois gêmeos, eram portadores da mutação DNAm_{it}11778G>A. Os cinco restantes, incluindo outros dois gêmeos, eram afetados com a mutação DNAm_{it}14484T>C. Três pacientes 3460, quatro 11778, e um 14484 tinham sintomas cardíacos. Oito pacientes 3460, cinco 11778, e um 14484 tinham anormalidades eletrocardiográficas. Dos onze pacientes com a mutação 3460, cinco tinham hipertrofia miocárdica. Entretanto, esse achado não foi encontrado em pacientes com as mutações 11778 e 14484. Uma inexplicável dilatação ventricular esquerda foi vista em um paciente com a mutação 14484. Uma história de morte súbita foi relatada por um membro de uma genealogia com a mutação 3460. Um paciente, com diagnóstico prévio de miocardiopatia hipertrófica, recebeu um marca-passo para a disfunção do nó sinusal. Nenhum paciente tinha evidência de pré-excitação ventricular em repouso e não há evidência de miopatia esquelética em qualquer um dos pacientes estudados.

A heterogeneidade fenotípica a respeito do envolvimento cardíaco observado nesse estudo pode ser explicada em parte pelas subunidades diferentes de proteínas que são afetadas pela mutações 3460, 11778, e 14484. Os achados nesse estudo sugerem que pacientes com NOHL deveriam submeter-se à avaliação cardíaca rotineira com ecocardiografia e eletrocardiografia. A relação entre mutações particulares e doença cardíaca, e a história natural de doença cardíaca na NOHL justificam a necessidade de estudos adicionais (SORAJJA et al., 2003).

2.6.2 Manifestações neurológicas

Um pequeno número de genealogias da NOHL apresenta déficit neurológico grave (distonia espástica, ataxia e início juvenil de encefalopatia) somados a neuropatia óptica. Essas síndromes associadas à NOHL estão ligadas a várias mutações do DNAm_{it} em famílias isoladas da Holanda, Austrália e América do Norte:

A11696G e/ou T14596A, T4160C, e G14459A, respectivamente (HOWELL et al., 1991b; JUN, BROWN E WALLACE, 1994; DE VIRES et al., 1996; GROPMAN et al., 2004; TARNOPOLSKY et al., 2004).

Nikoskelainen et al. conduziram um estudo na Finlândia no qual 46 pacientes com NOHL (38 homens, 8 mulheres) de 24 famílias com a doença foram reexaminados sob o ponto de vista neurológico. Os pacientes foram divididos em três grupos de acordo com a análise do DNAmít. Havia 27 pacientes com a mutação 11778 e nove com a mutação 3460. O terceiro grupo era composto por dez pacientes sem as mutações primárias mais comuns, e cinco sem qualquer mutação primária; entretanto, dois irmãos tinham as mutações 12811 e 13967 na subunidade ND5 e dois irmãos as mutações 4732 e 13637 na subunidade ND2 e ND5 respectivamente, e em um paciente não foi detectada qualquer mutação do complexo I. Todos os pacientes com mutações desconhecidas encontravam-se em estágios agudos da NOHL, incluindo quatro pacientes com migrânea e um paciente com epilepsia.

Os pacientes receberam uma avaliação neurológica completa complementada com uma revisão de seus relatos médicos prévios. Secundariamente exames neurorradiológicos foram realizados em nove pacientes (NIKOSKELAINEN et al., 1995). Nas famílias analisadas, o tremor foi visto em todos os três grupos, reforçando a associação entre tremor e NOHL (HEINONEN, 1932; BEREDAY E COBB, 1952; WILSON, 1963; WALLACE, 1970; LARSSON et al., 1991; HOWELL et al., 1991b; NIKOSKELAINEN et al., 1995). O tremor ocorreu em 20% (nove de 46) dos pacientes analisados, sendo que quatro deles possuíam parentes maternos com tremor similar.

Larsson *et al* descreveram um caso similar em que um paciente com a mutação 11778 desenvolveu tremor unilateral e rigidez um ano após o envolvimento do nervo óptico aos 36 anos de idade. A ressonância magnética cerebral mostrou lesões nitidamente definidas bilateralmente no putâmen. Esse tipo de necrose estriatal putaminal associados a sintomas distônicos proeminentes co-segregados com as genealogias da NOHL foi relatado por muitos autores, sugerindo uma conexão mais específica do tremor com a NOHL. E em um dos pacientes com a mutação 3460 foi constatado parkinsonismo e distonia cervical (BRUYN E WENT, 1964; WALLACE, 1970; DE WEERDT E WENT, 1971; NOVOTNY, SINGH E WALLACE, 1986; MARSDEN et al., 1986; BRUYN, VIELVOYE E WENT, 1991;

LARSSON et al., 1991; LEUZZI et al., 1992; MACKEY, 1995). Duas mutações de ponto entre as mutações do Complexo I do DNAmít, m.3376G>A e m.3697G>A, foram recentemente identificadas em indivíduos com manifestações clínicas sobrepostas de NOHL e MELAS (encefalopatia mitocondrial, acidose láctica, e episódios AVC-like). Curiosamente, uma minoria de portadores da NOHL, predominantemente mulheres com a mutação 11778G>A, desenvolvem apresentação clínica e neuroimagem compatível com esclerose múltipla (MS) (HARDING et al., 1992; KELLAR-WOOD et al., 1994; JANSEN, VAN DER KNAAP E DE COO, 1996; VANOPDENBOSCH et al., 2000; BLAKELY et al., 2005; SPRUIJT et al., 2007).

Atualmente é desconhecido se a prevalência dessa MS-like em LHON é maior do que o esperado devido a chance de ocorrência dessas 2 desordens, e embora controverso, alguns investigadores argumentam para um papel potencial de autoimunidade na fisiopatologia dessa doença mitocondrial (GOVAN et al., 1994; SMITH et al., 1995; CHALMERS et al., 1996; SAPEY, BURDON E NIGHTINGALE, 2001; KOVACS et al., 2005).

Embora Leber tenha descrito sinais e sintomas neurológicos menores em seus pacientes afetados, outros autores relataram cefaléia, instabilidade emocional, anormalidades reflexas, polineuropatias, convulsões, retardo mental, e outros sinais neurológicos não-específicos; até mesmo uma interação entre alcoolismo e a gravidade da NOHL é relativamente comum (DE WEERDT E WENT, 1971; CULLOM et al., 1993; NIKOSKELAINEN et al., 1995).

2.7 POSSÍVEIS TRATAMENTOS: PERSPECTIVAS FUTURAS NA NOHL

A despeito do conhecimento incompleto dos mecanismos patológicos da NOHL, alguma esperança reside em novas tentativas de intervenções capazes de desacelerar a progressão da doença. O desenvolvimento de modelos animais fiéis na NOHL é difícil, porém existem alguns nos quais as mutações primárias foram introduzidas com sucesso no genoma mitocondrial. Embora existam desafios técnicos, ao longo da década passada avanços significantes foram obtidos. Existem atualmente dois principais paradigmas experimentais. O genético que desfaz a fosforilação oxidativa e repete experimentalmente a degeneração do nervo óptico, e

o farmacológico, através da investigação do papel de agentes antioxidantes na prevenção dos danos visuais causados pela NOHL.

As mutações primárias são substituições de uma única base no DNAmít, necessitando assim de alta carga mutacional para causar a doença. O fato de as CGR encontrarem-se expostas ao humor vítreo permite um acesso mais fácil por plasmídeos e vetores virais que possam ser injetados dentro desse compartimento do olho.

Esses são os pré-requisitos que favorecem o desenvolvimento da introdução de uma terapia gênica local, tendo como intuito restaurar a heteroplasmia através da entrega de um correspondente do tipo selvagem da subunidade do complexo I. Por outro lado, muitos obstáculos teriam de ser superados nessa linha de pensamento. Em células vivas, as subunidades da NADH desidrogenase (subunidade-ND) codificadas por genes do DNAmít são transcritas e traduzidas dentro da matriz mitocondrial e são desprovidas de seqüências de importação. Devido a impossibilidade de transferência de genes para dentro da mitocôndria *in vivo*, vetores foram construídos para realizarem a chamada 'expressão alotópica'. O tipo selvagem para a subunidade-ND foi clonado em vetores, nos quais foi possível uma tradução citoplasmática satisfatória do polipeptídeo e em seguida, importada para dentro da mitocôndria através da fusão em uma seqüência-alvo adequada. Para atingir essa meta, a seqüência codificadora da subunidade-ND deve ser adaptada ao código genético universal, que se difere levemente do código genético mitocondrial. Isso foi obtido por mutagênese *in vitro*. Porém, não está claro ainda, se a subunidade humana 'alotopicamente' expressa permanece corretamente integrada ao complexo I durante seu acoplamento (KIRCHES, 2011).

A primeira vez em que a rota do transferidor do gene foi aplicável *in vivo*, ocorreu pela injeção de um vetor carregando o gene ND4 mutante no humor vítreo dos olhos de ratos. Constatou-se então, que houve realmente a incorporação da subunidade transgênica ao complexo I, pois a neuropatia óptica ocorreu (QI et al., 2007). Posteriormente foi relatada uma reversão bem sucedida do declínio energético em *cybrids* G11778A utilizando a expressão alotópica do tipo selvagem para o gene ND4 através do mesmo vetor viral (GUY et al., 2002). Ellouze e colaboradores forneceram recentemente uma forte prova de princípio para a técnica de entrega gênica e para o seu potencial terapêutico. Os autores relataram que a perda das CGR em ratos pode ser provocada pela entrega de um gene ND4

mutante, bem como ser prevenida pela transferência subsequente do tipo selvagem do ND4 duas semanas depois (ELLOUZE et al., 2008). Esses incrementos criaram alguma esperança quanto a uma possível terapia gênica que restaure a função do complexo I em pacientes com comprometimento no gene ND4 (LAM et al., 2010).

Atualmente, intervenções farmacológicas com antioxidantes representam um caminho mais rápido e relativamente seguro no desenvolvimento do tratamento para a NOHL, conforme avaliado em contínuos ensaios clínicos duplo-cego placebo-controle com o derivado da ubiquinona, denominado idebenona. Entretanto, esses tratamentos são projetados para atenuar uma provável consequência bioquímica das mutações da NOHL, e não curar seu defeito primário. Os resultados dos ensaios clínicos mostrarão qual impacto a idebenona terá nos melhores desfechos desses pacientes.

O início precoce do tratamento será crucial em todos os tipos de intervenções terapêuticas, assim como serão os benefícios adicionais dos métodos, permitindo a identificação precoce dos portadores das mutações, e posteriormente uma melhor avaliação do seu risco. Abordagens genéticas moleculares não são de maior importância com propósitos tardios, contanto que nenhum alelo modificador possa ser identificado com um impacto que vá além de um limitado conjunto de genealogias regionais (KIRCHES, 2011).

3 CONCLUSÃO

Sendo causa importante de morbidade visual, a NOHL, em contra-partida, carece de publicações mais didáticas que aproximem seus aspectos genéticos da prática médica. A compreensão de seus mecanismos fisiopatológicos, que interligam defeitos bioquímicos às mutações do DNAmít, norteiam as principais frentes de pesquisas experimentais que visam criar alternativas terapêuticas para uma doença ainda sem cura.

O entendimento que seu fenótipo encontra-se em expansão faz com que cada vez mais abordagens interdisciplinares se somem a fim de garantir melhor amparo aos pacientes.

Ainda que o aconselhamento genético ofereça algum suporte na doença, as repercussões clínicas advindas de seu mecanismo de herança não devem ficar

restritas a geneticistas e oftalmologistas, visto que conseqüências sistêmicas afetam os indivíduos acometidos pela NOHL.

REFERÊNCIAS

- Abu-Amero KK. Leber's Hereditary Optic Neuropathy: The Mitochondrial Connection Revisited. *Middle East African Journal of Ophthalmology*. 2011;18:17-23.
- Barboni P, Savini G, Valentino ML, La Morgia C, Bellusci C, De Negri AM, Sadun F, Carta A, Carbonelli M, Sadun AA, Carelli V. Leber's hereditary optic neuropathy with childhood onset. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:5303-9.
- Bereday M, Cobb S. Relation of hereditary optic atrophy (Leber) to other familial degenerative diseases of central nervous system. *AMA Archives of Ophthalmology* 1952; 48:669-80.
- Biousse V, Brown MD, Newman NJ, Allen JC, Rosenfeld J, Meola G, Wallace DC. De novo 14484 mitochondrial DNA mutation in monozygotic twins discordant for Leber's hereditary optic neuropathy. *Neurology* 1997;49:1136-8.
- Blakely EL, de Silva R, King A, Schwarzer V, Harrower T, Dawidek G, Turnbull DM, Taylor RW. LHON/MELAS overlap syndrome associated with a mitochondrial MTND1 gene mutation. *Eur J Hum Genet* 2005;13:623-7.
- Bower SP, Hawley I, Mackey DA. Cardiac arrhythmia and Leber's hereditary optic neuropathy [letter]. *Lancet* 1992;339:1427-8.
- Brown MD, Starikovskaya E, Derbeneva O, Hosseini S, Allen JC, Mikhailovskaya IE, et al. The role of mtDNA background in disease expression: A new primary LHON mutation associated with Western Eurasian haplogroup. *J Hum Genet* 2002;110:130-8.
- Brown, D.T., Herbert, M., Lamb, V.K., Chinnery, P.F., Taylor, R.W., Lightowlers, R.N., et al., 2006. Transmission of mitochondrial DNA disorders: possibilities for the future. *Lancet* 368, 87-89.
- Brown, M.D.; Trounce, I.A.; Jun, A.S.; Allen, J.C.; Wallace, D.C. Functional analysis of lymphoblast and cybrid mitochondria containing the 3460, 11778, or 14484 Leber's hereditary optic neuropathy mitochondrial DNA mutation. *J. Biol. Chem.*, 2000, 275, 39831-39836.
- Bruyn GW, Vielvoye GJ, Went LN. Hereditary spastic dystonia: a new mitochondrial encephalopathy? Putaminal necrosis as a diagnostic sign. *Neurol Sci* 1991;103:195-202.
- Bruyn GW, Went LN. A sex-linked hereditary degenerative neurological disorder associated with Leber's optic atrophy. *Neurol Sci* 1964;1:59-80.
- Bu, X., Rotter, J.I., 1992. Leber hereditary optic neuropathy: estimation of number of embryonic precursor cells and disease threshold in heterozygous affected females at the X-linked locus. *Clinical Genetics* 42, 143e148.

Bu, X.D., Rotter, J.I., 1991. X chromosome-linked and mitochondrial gene control of Leber hereditary optic neuropathy: evidence from segregation analysis for dependence on X chromosome inactivation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 88, 8198e8202.

Bua, E., Johnson, J., Herbst, A., DeLong, B., McKenzie, D., Salamat, S., et al., 2006. Mitochondrial DNA-deletion mutations accumulate intracellularly to detrimental levels in aged human skeletal muscle fibers. *American Journal of Human Genetics* 79, 469-480.

Cann, R.L., 2001. Genetic clues to dispersal in human populations: retracing the past from the present. *Science* 291, 1742-1748.

Carelli V, Achilli A, Valentino ML, Rengo C, Semino O, Pala M, Olivieri A, Mattiazzi M, Pallotti F, Carrara F, Zeviani M, Leuzzi V, Carducci C, Valle G, Simionati B, Mendieta L, Salomao S, Belfort R Jr, Sadun AA, Torroni A. Haplogroup effects and recombination of mitochondrial DNA: novel clues from the analysis of Leber hereditary optic neuropathy pedigrees. *Am J Hum Genet* 2006;78:564-74.
 Carelli, V., La Morgia, C., Iommarini, L., Carroccia, R., Mattiazzi, M., Sangiorgi, S., et al., 2007. Mitochondrial optic neuropathies: how two genomes may kill the same cell type? *Bioscience Reports* 27, 173-184.

Carelli, V.; Ghelli, A.; Bucchi, L.; Montagna, P.; De Negri, A.; Leuzzi, V.; Carducci, C.; Lenaz, G.; Lugaresi, E.; Degli Esposti, M. Biochemical features of mtDNA 14484 (ND6/M64V) point mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy. *Ann. Neurol.*, 1999, 45, 320-328.

Carelli, V.; Ghelli, A.; Ratta, M.; Bacchilega, E.; Sangiorgi, S.; Mancini, R.; Leuzzi, V.; Cortelli, P.; Montagna, P.; Lugaresi, E.; Degli Esposti, M. Leber's hereditary optic neuropathy: biochemical effect of 11778/ND4 and 3460/ND1 mutations and correlation with the mitochondrial genotype. *Neurology*, 1997, 48, 1623-1632.

Chalmers RM, Govan GG, Schapira AH, Harding AE. HLA class I genotypes in Leber's hereditary optic neuropathy. *J Neurol Sci* 1996;135:173-5.

Chinnery P.F., Brown D.T., Andrews R.M., Singh-Kler R., Riordan-Eva P., Lindley J., Applegarth D.A., Turnbull D.M., Howell N., (2001a). The mitochondrial ND6 gene is a hot spot for mutations that cause Leber's hereditary optic neuropathy. *Brain* 124:209-18.

Chinnery PF, Howell N, Andrews RM, Turnbull DM. Mitochondrial DNA analysis: Polymorphisms and pathogenicity. *J Med Genet* 1999;36:505-10.

Chinnery, P.F., Andrews, R.M., Turnbull, D.M., Howell, N., 2001b. Leber hereditary optic neuropathy: does heteroplasmy influence the inheritance and expression of the G11778A mitochondrial DNA mutation? *American Journal of Medical Genetics* 98, 235-243.

- Cullom ME, Heher KL, Miller NR, Savino PJ, Johns DR. Leber's hereditary optic neuropathy masquerading as tobacco-alcohol amblyopia. *Arch Ophthalmol* 1993; 111: 1482-5.
- De Vires DD, Went LN, Bruyn GW, Scholte HR, Hofstra RM, Bolhuis PA, van Oost BA. Genetic and biochemical impairment of mitochondrial complex I activity in a family with Leber hereditary optic neuropathy and hereditary spastic dystonia. *Am J Hum Genet* 1996;58:703-11.
- de Weerd CJ, Went LN. Neurological studies in families with Leber's optic atrophy. *Neurologica Scandinavica* 1971;47:541-54.
- Dudkina NV, Eubel H, Keegstra W, Boekema EJ, Braun HP. Structure of a mitochondrial supercomplex formed by respiratory-chain complexes I and III. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:3225-9.
- Dudkina, N.V., Kouril, R., Peters, K., Braun, H.P., Boekema, E.J., 2010. Structure and function of mitochondrial supercomplexes. *Biochimica et Biophysica Acta Bioenergetics* 1797, 664e670.
- Durham, S.E., Samuels, D.C., Cree, L.M., Chinnery, P.F., 2007. Normal levels of wildtype mitochondrial DNA maintain cytochrome c oxidase activity for two pathogenic mitochondrial DNA mutations but not for m.3243A->G. *American Journal of Human Genetics* 81, 189-195.
- Elliott HR, Samuels DC, Eden JA, Relton CL, Chinnery PF. Pathogenic mitochondrial DNA mutations are common in the general population. *Ann J Hum Genet* 2008;83:254-60.
- Ellouze, S.; Augustin, S.; Bouaita, A.; Bonnet, C.; Simonutti, M.; Forster, V.; Picaud, S.; Sahel, J.A.; Corral-Debrinski, M. Optimized allotopic expression of the human mitochondrial ND4 prevents blindness in a rat model of mitochondrial dysfunction. *Am. J. Hum. Genet.*, 2008, 83, 373-387.
- Erickson, R.P. Leber's optic atrophy, a possible example of maternal inheritance. *Am. J. Hum. Genet.*, 1972, 24, 348-349.
- Govan GG, Smith PR, Kellar-Wood H, Schapira AH, Harding AE. HLA class II genotypes in Leber's hereditary optic neuropathy. *J Neurol Sci* 1994;126:193-6.
- Gropman A, Chen TJ, Perng CL, Krasnewich D, Chernoff E, Tiffit C, Wong LJ. Variable clinical manifestation of homoplasmic G14459A mitochondrial DNA mutation. *Am J Med Genet Part A* 2004;124:377-82.
- Guy, J.; Qi, X.; Pallotti, F.; Schon, E.A.; Manfredi, G.; Carelli, V.; Martinuzzi, A.; Hauswirth, W.W.; Lewin, A.S. Rescue of a mitochondrial deficiency causing Leber Hereditary Optic Neuropathy. *Ann. Neurol.*, 2002, 52, 534-542.
- Harding AE, Sweeney MG, Miller DH, Mumford CJ, Kellar-Wood H, Menard D, McDonald WI, Compston DA. Occurrence of a multiple sclerosis-like illness in women who have a Leber's hereditary optic neuropathy mitochondrial DNA mutation. *Brain* 1992;115:979-89.

Harding, A.E., Sweeney, M.G., Govan, G.G., Riordan-Eva, P., 1995. Pedigree analysis in Leber hereditary optic neuropathy families with a pathogenic mtDNA mutation. *American Journal of Human Genetics* 57, 77-86.

Heinonen O. Beobachtungen bei der Leberschen Krankheit. *Acta Ophthalmol* 1932;10:20 1- 1.

Hofhaus, G.; Johns, D.R.; Hurko, O.; Attardi, G.; Chomyn, A. Respiration and growth defects in transmittochondrial cell lines carrying the 11778 mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy. *J. Biol. Chem.*, 1996, 271, 13155-13161.

Howell N, Kubacka I, Xu M, McCullough DA. Leber hereditary optic neuropathy: involvement of the mitochondrial ND1 gene and evidence for an intragenic suppressor mutation. *Am J Hum Genet* 1991b;48:935-42.

Howell, N.; Bindoff, L.A.; McCullough, D.A.; Kubacka, I.; Poulton, J.; Mackey, D.; Taylor, L.; Turnbull, D.M. Leber hereditary optic neuropathy: identification of the same mitochondrial ND1 mutation in six pedigrees. *Am. J. Hum. Genet.*, 1991a, 49, 939-950.

Hudson, G., Carelli, V., Spruijt, L., Gerards, M., Mowbray, C., Achilli, A., et al., 2007. Clinical expression of Leber hereditary optic neuropathy is affected by the mitochondrial DNA-haplogroup background. *American Journal of Human Genetics* 81, 228-233.

Jansen PH, van der Knaap MS, de Coo IF. Leber's hereditary optic neuropathy with the 11778mtDNA mutation and white matter disease resembling multiple sclerosis: clinical. MRI and MRS findings. *J Neurol Sci* 1996;135:176-80.

Johns DR, Heher KL, Miller NR, Smith KH. Leber's hereditary optic neuropathy. Clinical manifestations of the 14484 mutation. *Arch Ophthalmol* 1993;111:495-8.

Johns, D.R.; Sadun, A.A. Cuban epidemic optic neuropathy. Mitochondrial DNA analysis. *J. Neuroophthalmol.*, 1994, 14, 130-134.

Jun AS, Brown MD, Wallace DC. A mitochondrial DNA mutation at nucleotide pair 14459 of the NADH dehydrogenase subunit 6 gene associated with maternally inherited Leber hereditary optic neuropathy and dystonia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:6206-10.

Kellar-Wood H, Robertson N, Govan GG, Compston DA, Harding AE. Leber's hereditary optic neuropathy mitochondrial DNA mutations in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1994;36:109-12.

Kirches E. LHON: Mitochondrial Mutations and More. *Current Genomics*. 2011;12:44-54.

Kirkman, M.A.; Yu-Wai-Man, P.; Korsten, A.; Leonhardt, M.; Dimitriadis, K.; De Coo, I.F.; Klopstock, T.; Chinnery, P.F. Geneenvironment interactions in Leber hereditary optic neuropathy. *Brain*, 2009, 132, 2317-2326.

Kovacs GG, Hoftberger R, Majtenyi K, Horvath R, Barsi P, Komoly S, Lassmann H, Budka H, Jakab G. Neuropathology of white matter disease in Leber's hereditary optic neuropathy. *Brain* 2005;128:35-41.

Lam, B.L.; Feuer, W.J.; Abukhalil, F.; Porciatti, V.; Hauswirth, W.W.; Guy, J. Leber hereditary optic neuropathy gene therapy clinical trial recruitment: year 1. *Arch. Ophthalmol.*, 2010, 128, 1129-1135.

Larsson N-G, Andersen O, Holme E, Oldfors A, Wahlstrom J. Leber's hereditary optic neuropathy and complex I deficiency in muscle. *Ann Neural* 1991;30: 701-8.

Lehninger, Albert Lester. *Princípios de Bioquímica*. São Paulo: SARVIER, 4ª edição. 2006.

Leuzzi V, Bertini E, De Negri AM, Gallucci M, Garavaglia B. Bilateral striatal necrosis, dystonia and optic atrophy in two siblings. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1992;55: 16-9.

Lodi R., Montagna P., Cortelli P., Iotti S., Cevoli S., Carelli V., Barbiroli B. (2000). 'Secondary' 4216/ND1 and 13708/ND5 Leber's hereditary optic neuropathy mitochondrial DNA mutations do not further impair in vivo mitochondrial oxidative metabolism when associated with the 11778/ND4 mitochondrial DNA mutation. *Brain* 123: 1896-1902.

M. Houshmand, T. Mahmoudi, M. Shafa Shariat Panahi, Y. Seyedena, S. Saber, M. Ataei. Identification of a new human mtDNA polymorphism (A14290G) in the NADH dehydrogenase subunit 6 gene. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. (2006) 39: 725-730.

Mackey D, Howell N. A variant of Leber hereditary optic neuropathy characterized by recovery of vision and by an unusual mitochondrial genetic etiology. *Am J Hum Genet* 1992;51:1218-28.

Mackey DA. Three subgroups of patients with Leber hereditary optic neuropathy from the UK. *Eye* 1995 (in press).

Majander, A.; Huoponen, K.; Savontaus, M.L.; Nikoskelainen E.; Wikstrom, M. Electron transfer properties of NADH:ubiquinone reductase in the ND1/3460 and the ND4/11778 mutations of the Leber hereditary optic neuroretinopathy (LHON). *FEBS Lett.*, 1991, 292, 289-292.

Man PY, Griffiths PG, Brown DT, Howell N, Turnbull DM, Chinnery PF. The epidemiology of Leber hereditary optic neuropathy in the North East of England. *Am J Hum Genet* 2003;72:333-9.

Manoj Kumar, Mukesh Tanwar, Rohit Saxena, Pradeep Sharma, Rima Dada. Identification of a novel mitochondrial mutations in Leber's hereditary optic neuropathy. *Molecular Vision* 2010; 16:782-792.

Marsden CD, Lang AE, Quinn NP, McDonald WI, Abdallat A, Nimri S. Familial dystonia and visual failure with striatal CT lucencies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1986;49:500-9.

Mashima Y, Kigasawa K, Hasegawa H, Tani M, Oguchi Y. High incidence of pre-excitation syndrome in Japanese families with Leber's hereditary optic neuropathy. *Clin Genet* 1996;50:535-7.

Meire FM, Van Coster R, Cochaux P, Obermaier-Kusser B, Candaele C, Martin JJ. Neurological disorders in members of families with Leber's hereditary optic neuropathy (LHON) caused by different mitochondrial mutations. *Ophthalm Genet* 1995;16:119-26.

Nikoskelainen E.K., Huoponen K., Juvonen V., Lamminen T., Nummelin K., Savontaus M.L. (1996). Ophthalmologic findings in Leber hereditary optic neuropathy, with special reference to mtDNA mutations. *Ophthalmology* 103: 504-514.

Nikoskelainen EK, Marttila RJ, Huoponen K, Juvonen V, Lamminen T, Sonninen P, Savontaus ML. Leber's "plus": neurological abnormalities in patients with Leber's hereditary optic neuropathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1995;59:160-4.

Nikoskelainen EK, Savontaus ML, Huoponen K, Antila K, Hartiala J. Pre-excitation syndrome in Leber's hereditary optic neuropathy. *Lancet* 1994b;344:857-8.

Nikoskelainen EK. Clinical picture of LHON. *Clin Neurosci* 1994a;2:115-20.

Novotny EJ, Singh G, Wallace DC, et al. Leber's disease and dystonia: a mitochondrial disease. *Neurology* 1986;36: 1053-60.

OMIM.

Parsons, T.J., Muniec, D.S., Sullivan, K., Woodyatt, N., AllistonGreiner, R., Wilson, M.R., et al., 1997. A high observed substitution rate in the human mitochondrial DNA control region. *Nature Genetics* 15, 363-368.

Phasukkijwatana, N., Kunhapan, B., Stankovich, J., Chuenkongkaew, W.L., Thomson, R., Thornton, T., et al., 2010. Genome-wide linkage scan and association study of PARL to the expression of LHON families in Thailand. *Human Genetics* 128, 39e49.

Puomila A, Hamalainen P, Kivioja S, Savontaus ML, Koivumaki S, Huoponen K, Nikoskelainen E. Epidemiology and penetrance of Leber hereditary optic neuropathy in Finland. *Eur J Hum Genet* 2007;15:1079-89.

Qi, X.; Sun, L.; Lewin, A.S.; Hauswirth, W.W.; Guy, J. The mutant human ND4 subunit of complex I induces optic neuropathy in the mouse. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2007, 48, 1-10.

Quiros PA, Torres RJ, Salomao S, Berezovsky A, Carelli V, Sherman J, Sadun F, De Negri A, Belfort R, Sadun AA. Colour vision defects in asymptomatic carriers of the Leber's hereditary optic neuropathy (LHON) mtDNA 11778 mutation from a large Brazilian LHON pedigree: a case-control study. *Br J Ophthalmol* 2006;90:150-3.

Riordan-Eva P, Harding AE. Leber's hereditary optic neuropathy: the clinical relevance of different mitochondrial DNA mutations. *J Med Genet* 1995;32:81-7.

Sadun AA, Carelli V, Salomao SR, Berezovsky A, Quiros P, Sadun F, DeNegri AM, Andrade R, Schein S, Belfort R. A very large brazilian pedigree with 11778 Leber's Hereditary Optic Neuropathy. *Trans. Am. Ophthalmol. Soc* 2002;100.

Sadun AA, Salomao SR, Berezovsky A, Sadun F, Denegri AM, Quiros PA, Chicani F, Ventura D, Barboni P, Sherman J, Sutter E, Belfort R Jr, Carelli V, Patsi J, Kervinen M, Finel M, Hassinen IE. Subclinical carriers and conversions in Leber hereditary optic neuropathy: a prospective psychophysical study. *Trans Am Ophthalmol Soc* 2006;104:51-61.

Sapey E, Burdon MA, Nightingale S. Evidence of active demyelination in a man with Leber's hereditary optic neuropathy mtDNA 14484 genotype. *Neuro-Ophthalmology* 2001;26:119-26.

Savini G, Barboni P, Valentino ML, Montagna P, Cortelli P, De Negri AM, Sadun F, Bianchi S, Longanesi L, Zanini M, Carelli V. Retinal nerve fiber layer evaluation by optical coherence tomography in unaffected carriers with Leber's hereditary optic neuropathy mutations. *Ophthalmology* 2005;112:127-31.

Schaefer AM, McFarland R, Blakely EL, He L, Whittaker RG, Taylor RW, Chinnery PF, Turnbull DM. Prevalence of mitochondrial DNA disease in adults. *Ann Neurol* 2008;63:35-9.

Sherman J, Kleiner L. Visual-system dysfunction in Leber's hereditary optic neuropathy. *Clin Neurosci* 1994;2:121-9.

Shoubridge, E.A., Karpati, G., Hastings, K.E.M., 1990. Deletion mutants are functionally dominant over wild-type mitochondrial genomes in skeletal-muscle fiber segments in mitochondrial disease. *Cell* 62, 43-49.

Siguroardottir, S., Helgason, A., Gulcher, J.R., Stefansson, K., Donnelly, P., 2000. The mutation rate in the human mtDNA control region. *American Journal of Human Genetics* 66, 1599-1609.

Smith PR, Cooper JM, Govan GG, Riordan-Eva P, Harding AE, Schapira AH. Antibodies to human optic nerve in Leber's hereditary optic neuropathy. *J Neurol Sci* 1995;130:134-8.

- Smith, K.H., Johns, D.R., Heher, K.L., Miller, N.R., 1993. Heteroplasmy in Leber's hereditary optic neuropathy. *Archives of Ophthalmology* 111, 1486-1490.
- Smith, P.R.; Cooper, J.M.; Govan, G.G.; Harding, A.E.; Schapira, A.H. Platelet mitochondrial function in Leber's hereditary optic neuropathy. *J. Neurol. Sci.*, 1994, 122, 80-83.
- Sorajja P, Sweeney MG, Chalmers R, Sachdev B, Surrís P, Hanna M, Wood ND, McKenna WJ, Elliott PM. Cardiac abnormalities in patients with Leber's hereditary optic neuropathy. *Heart* 2003;89:791-792.
- Spruijt L, Kolbach DN, de Coo RF, Plomp AS, Bauer NJ, Smeets HJ, de Die-Smulders CEM. Influence of mutation type on clinical expression of Leber hereditary optic neuropathy. *Am J Ophthalmol* 2006;141:676-82.
- Spruijt L, Smeets HJ, Sluiter W, de Coo IF, Hintzen RQ. A MELAS-associated ND1 mutation causing Leber hereditary optic neuropathy and spastic dystonia. *Arch Neurol* 2007; 64:890-3.
- Stone EM, Newman NJ, Miller NR, Johns DR, Lott MT, Wallace DC. Visual recovery in patients with Leber's hereditary optic neuropathy and the 11778 mutation. *J Clin Neuroophthalmol* 1992;12:10-4.
- Sugisaka E, Ohde H, Shinoda K, Mashima Y. Woman with atypical unilateral Leber's hereditary optic neuropathy with visual improvement. *Clin Exp Ophthalmol* 2007;35:868-70.
- Tarnopolsky MA, Baker SK, Myint T, Maxner CE, Robitaille J, Robinson BH, Clinical variability in maternally inherited Leber hereditary optic neuropathy with the G14459A mutation. *Am J Med Genet Part A* 2004;124:372-6.
- Taylor, R.W., Jobling, M.S., Turnbull, D.M., Chinnery, P.F., 2003. Frequency of rare mitochondrial DNA mutations in patients with suspected Leber's hereditary optic neuropathy. *Journal of Medical Genetics*, 40.
- Tharaphan, P., Chuenkongkaew, W.L., Luangtrakool, K., Sanpachudayan, T., Suktitipat, B., Suphavilai, R., et al., 2006. Mitochondrial DNA haplogroup distribution in pedigrees of Southeast Asian G11778A Leber hereditary optic neuropathy. *Journal of Neuro-Ophthalmology* 26, 264-267.
- Tonska KM, Kisiel B, Piechota J, Bartnik E. Leber hereditary optic neuropathy – a disease with a known molecular basis but a mysterious mechanism of pathology. *J Appl Genet.* 2003;44(4):529-538.
- Tonska, K., Kodron, A., Bartnik, E., 2010. Genotype-phenotype correlations in Leber hereditary optic neuropathy. *Biochimica et Biophysica Acta-Bioenergetics* 1797, 1119-1123.
- Vanopdenbosch L, Dubois B, D'Hooghe MB, Meire F, Carton H. Mitochondrial mutations of Leber's hereditary optic neuropathy: a risk factor for multiple sclerosis. *J Neurol* 2000;247:535-43.

Wallace DC, Singh G, Lott MT, Hodge JA, Schurr TG, Lezza AM, Elsas LJd, Nikoskelainen EK. Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy. *Science* 1988;242:1427-30.

Wallace DC. A new manifestation of Leber's disease and a new explanation for the agency responsible for its unusual pattern of inheritance. *Brain* 1970;93:121-32.

Wilson J. Leber's hereditary optic atrophy. Some clinical and aetiological considerations. *Brain* 1963;86:347-62.

Yu-Wai-Man P, Griffiths PG, Chinnery PF. Mitochondrial optic neuropathies – Disease mechanisms and therapeutic strateies. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2011;30:81-114.

Yu-Wai-Man P, Griffiths PG, Hudson G, Chinnery PF. Inherited mitochondrial optic neuropathies. *J Med Genet* 2009;46:145–158.

Zhang, A.M.; Jia, X.; Zhang, Q.; Yao, Y.G. No association between the SNPs (rs3749446 and rs1402000) in the PARL gene and LHON in Chinese patients with m.11778G>A. *Hum. Genet.*, 2010, 128, 465-468.