

Reporte de la primera familia costarricense con Neuropatía Óptica Hereditaria de Leber y una revisión del tema

A case of the first costarican family with Leber's hereditary optic neuropathy and review

Alejandra Carvajal Cuenca*, Huberth Fernández Morales**, Marvin Heyden Cordero***

Clínica Neurológica "Centro Médico Integral"*
Servicio de Neurología, Hospital Dr. Calderón Guardia**
Servicio de Neurología, Hospital México***

Correspondencia: Dra. Alejandra Carvajal Cuenca. Apdo. 884-215 San José, Costa Rica - E-mail: alecarvajal@gmail.com - Tel: 235-0265

Artículo recibido: 21-04-2006

Aprobado: 27-04-2006

ABSTRACT

Leber's hereditary optic neuropathy (LHON) is a maternally inherited disease that is characterized by bilateral subacute loss of central vision predominantly in young men. It is caused by mitochondrial DNA point mutations affecting complex I subunits of the respiratory chain. We will discuss the genetics, biochemistry and clinical aspects of this disease with the aim of informing the medical community in regard to the first affected family in Costa Rica.

Key Words: *Leber hereditary optic neuropathy, mitochondrial DNA, Costa Rica, maternally inherited.*

RESUMEN

La neuropatía óptica hereditaria de Leber (LHON) es una enfermedad de herencia materna que se caracteriza por la pérdida sub aguda bilateral de la visión central, predominantemente en hombres jóvenes. Esta enfermedad es causada por mutaciones puntuales del ADN mitocondrial, afectando el complejo I de la cadena respiratoria. Se discutirá sobre la genética, la bioquímica y la clínica con el objetivo de dar a conocer esta enfermedad a la comunidad médica nacional a propósito del diagnóstico de la primera familia afectada.

Palabras Clave: Neuropatía óptica hereditaria de Leber, ADN mitocondrial, Costa Rica, herencia materna.

Introducción

La neuropatía óptica de Leber es una causa hereditaria de ceguera, que se caracteriza por la pérdida aguda o subaguda no dolorosa de la visión central y que se produce en personas sanas. La edad de inicio usual es entre los 15 y los 35 años de edad, aunque puede presentarse a cualquier edad. Es predominante en los hombres. En la forma típica, la pérdida de la visión es permanente y ambos ojos resultan afectados. Primero se afecta un ojo y después el otro, con una variación de semanas o meses entre los dos.

El primer signo oftalmológico que se detecta en la etapa presintomática de la enfermedad es la microangiopatía peripapilar telangiectásica. Al final de esta etapa aumenta la hiperemia, el pseudoedema del disco óptico y la arteriola se dilata. En la etapa aguda se pierde la visión y se observa hiperemia severa, dilatación arteriolar, inflamación del disco, angiopatía telangiectásica y una capa de fibras nerviosas blanquecina y opaca. La agudeza visual disminuye y se desarrolla un escotoma central. Los cambios en el fondo de ojo pueden ser mínimos o estar ausentes. Muchas veces el paciente se examina cuando los cambios importantes para el diagnóstico ya han desaparecido¹.

La microangiopatía desaparece mientras la enfermedad avanza a sus etapas finales. Al mismo tiempo la capa de fibras nerviosas desaparece: primero se atrofian las fibras nerviosas papilomaculares y meses después se atrofia toda la capa. En el estadio final el escotoma central es grande y

causa la pérdida de la visión. La mitad de los familiares no afectados tienen algún nivel de microangiopatía peripapilar, pero la función del nervio óptico permanece intacta. Los cambios patológicos empiezan en la vasculatura, lo que hace pensar que la LHON es una enfermedad primariamente microvascular y que el sitio primario de la enfermedad puede ser el endotelio capilar y arteriolar¹.

Además de la LHON clásica, la enfermedad se puede manifestar en tres diferentes presentaciones atípicas: la enfermedad subclínica, la enfermedad de desarrollo lento y la enfermedad con el estadio agudo clásico pero con recuperación espontánea. En la LHON subclínica, la agudeza visual disminuye poco. El inicio de la LHON de desarrollo lento es en la niñez, y el resultado visual es favorable!

La mutación que portan determina la agudeza visual final y la posibilidad de recuperación. Los pacientes más severamente afectados con la mutación np 11778 pueden no percibir la luz, los que presentan una forma severa de la np 3460 pueden preservar la percepción de la luz, en la np 15257 perciben movimiento de mano y la np 14484 permite contar dedos. Sólo un 4% de la np 11778 muestra recuperación después de 36 meses del inicio de la enfermedad; 22% de los pacientes con np 3460 se recuperan después de 68 meses; 28% de los pacientes con np 15257 se recuperan después de 16 meses y 37% de los pacientes con np 14484 se recuperan después de 16 meses^{2,3,4}.

Una pequeña proporción de los pacientes con LHON y sus familias tienen otros síntomas acompañantes; algunas

familias presentan defectos en la conducción cardíaca. En los pacientes finlandeses y en las familias japonesas los síndromes de preexcitación como el Wolff-Parkinson-White y el Lown-Ganong-Levine son frecuentes⁵. En una familia afroamericana con la np 11778 se observó una prolongación del intervalo QT corregido. Se han descrito varios problemas neurológicos menores, como reflejos alterados, ataxia y neuropatía sensorial, así como anomalías esqueléticas. En algunas familias con LHON se ha asociado la mutación np 11778 a la esclerosis múltiple. La LHON también puede estar asociada a distonía. Se ha reportado que la mutación causante de este fenotipo se encuentra en el gene ND6 del complejo 1⁶.

El hecho de que sólo pocos pacientes que abusan del alcohol y del cigarrillo desarrollan neuropatía óptica sugiere un elemento de susceptibilidad individual, resultado de una mutación mitocondrial asociada a LHON⁷.

Tres pacientes no relacionados con LHON con las mutaciones en la posición 3460 del gene ND1 y las posiciones 14459 y 14484 del gene ND6 desarrollaron un síndrome neurológico complicado que simulaba el síndrome de Leigh. Las pacientes presentaban parálisis de los músculos extraoculares, sordera, ataxia espástica, ataxia cerebelar, rigidez, hiperreflexia y múltiples hiperintensidades en el tallo cerebral en la RMN⁸.

Se han reportado dos casos con las mutaciones 11778 y 14484 en los que se produjo un empeoramiento subsecuente de la agudeza visual o del estrechamiento del campo visual varios años después del inicio de la enfermedad⁹.

En investigaciones realizadas con la tomografía de coherencia óptica (OCT), estudio que se utiliza para determinar el grosor de la retina, se ha concluido que la capa de fibras nerviosas de la retina se encuentra engrosada en los pacientes al inicio de la enfermedad y adelgazada en forma severa en los pacientes con LHON de más de seis meses de evolución. Las fibras temporales o papilomaculares son las primeras y más severamente afectadas. En los pacientes con recuperación visual espontánea las fibras nerviosas se ven preservadas en forma parcial¹⁰. En los portadores asintomáticos de LHON también se determinó un engrosamiento de la capa de fibras nerviosas en la región temporal de la retina¹¹.

Casos compatibles con la neuropatía óptica hereditaria de Leber encontrados en Costa Rica

En Costa Rica se ha encontrado una familia cuya presentación clínica es compatible con la neuropatía óptica hereditaria de Leber. En total son doce pacientes a los que se les debería realizar el análisis molecular con el fin de confirmar el diagnóstico clínico y la herencia de la mutación, lo cual se llevaría a cabo en el Instituto de Investigaciones en Salud (INISA) de la Universidad de Costa Rica. La realización de este proyecto está planeada para un futuro próximo. A continuación se hace un resumen de la sintomatología y del abordaje que se llevó a cabo en los tres pacientes que se encuentran en control en los servicios de Neurología de dos Hospitales Nacionales. Estos pacientes son primos entre sí. La figura 1 muestra la genealogía abreviada, donde se incluyen solamente los núcleos familiares de los individuos afectados o portadores de la enfermedad.

Caso 1

Un paciente masculino de 16 años de edad (ver

individuo III-10 en la Fig. 1) consulta por visión borrosa, escotoma central e historia de trauma en el ojo derecho. El TAC de órbitas se reportó normal. Al examen oftalmológico se encontró una neuritis óptica bilateral con palidez papilar bilateral. Los potenciales evocados mostraron ausencia de respuesta del ojo derecho y respuesta tardía del ojo izquierdo, compatible con una lesión anteroquiásmática bilateral. Se solicita realizar una Resonancia Magnética Nuclear para descartar esclerosis múltiple. En esta RMN se reporta una lesión desmielinizante gliótica del cuerpo geniculado lateral derecho. Anterior al cuerpo geniculado lateral se decusan las vías visuales, afectando ambos nervios ópticos, lo que explicaría la disminución en la agudeza visual bilateral. El paciente presenta una recuperación parcial de la agudeza visual. Se realizan nuevos potenciales evocados visuales que demostraron una ausencia de respuestas evocadas visuales compatible con una lesión severa anteroquiásmática bilateral. La neuritis óptica bilateral y la ausencia de respuestas evocadas visuales en la vía óptica corresponden a la disminución de la agudeza visual. La lesión desmielinizante encontrada a nivel del tálamo en la primera RMN no se encuentra en la RMN control. El paciente tiene un hermano y cuatro primos por parte de la familia materna con neuritis óptica. El paciente cuenta dedos a un metro de distancia con su ojo derecho y a 30 cm de distancia con su ojo izquierdo. La agudeza visual del paciente sigue mejorando y aún tiene palidez papilar en el ojo izquierdo.

Caso 2

Paciente femenina de 39 años de edad (ver individuo III-15 en la Fig.1) con un cuadro de pérdida visual progresiva de cuatro años de evolución. Inicialmente, la paciente se internó en el servicio de Neurología por una neuritis óptica bilateral con amaurosis incapacitante de mes y medio de evolución. El fondo de ojo era normal al comienzo del cuadro. Se solicitó una campimetría y un TAC de órbitas, ambos con resultados normales. Los potenciales evocados visuales mostraron una lesión mixta de predominio neuroaxonal, sin sintomatología. El fondo de ojo mostró palidez papilar bilateral al año de evolución, con atrofia óptica izquierda evidente. El tratamiento con esteroides no produjo mejoría significativa, a pesar de que la paciente refirió una mejoría leve en varias ocasiones. La resonancia magnética nuclear no fue concluyente para una enfermedad desmielinizante. La paciente no presenta síntomas neurológicos. A su hijo le diagnosticaron neuropatía óptica hereditaria de Leber en Estados Unidos. La agudeza visual de la paciente es de 20/800 en el ojo derecho y de 20/400 en el ojo izquierdo. La visión central está más afectada que la periférica, apenas distingue colores y presenta fotofobia.

Caso 3

Paciente masculino de 30 años de edad (ver individuo III-1 en la Fig.1) presenta cuadro de cuatro años de evolución caracterizado por pérdida visual progresiva. Se diagnostica una neuritis óptica bilateral confirmada por un estudio de potenciales evocados visuales que mostraron una lesión de tipo mixto bilateral de predominio izquierdo. El TAC de órbitas resultó normal. El fondo de ojo mostró palidez papilar bilateral al año de evolución del cuadro. El tratamiento con esteroides produjo una mejoría discreta no significativa. El paciente se encuentra estable con una agudeza visual en ambos ojos de 20/400, distingue colores y no lee.

Bioquímica

Todos los pasos bioquímicos del proceso oxidativo de la degradación de carbohidratos, grasas y aminoácidos culminan en la respiración celular, donde la energía de la oxidación lleva a la síntesis de ATP. La cadena respiratoria o cadena de transporte de electrones se encuentra en la membrana mitocondrial interna, la cual se puede dividir en cinco complejos enzimáticos separados, llamados complejos I, II, III, IV y V. Los primeros cuatro complejos son parte de la cadena de transporte de electrones y el complejo V cataliza la síntesis de ATP. Cada complejo acepta o dona electrones a transportadores como la coenzima Q y el citocromo c, los cuales pueden donar los electrones al siguiente transportador en la cadena con el objetivo de combinar el electrón con el oxígeno y los protones para formar agua y energía en forma de ATP (fosforilación oxidativa). El complejo I, el más frecuentemente afectado en LHON, cataliza dos procesos simultáneos: transfiere dos hidrogeniones (uno del NADH y otro de la matriz mitocondrial) a la ubiquinona y transfiere cuatro protones de la matriz al espacio intermembranoso. Por lo tanto el complejo I es una bomba de protones manejada por la energía resultante de la transferencia de electrones.

Las mutaciones asociadas a LHON son del tipo sentido equivocado, afectan los polipéptidos del complejo I, III y IV. Esto indica que la enfermedad es el resultado de un defecto en la cadena respiratoria¹². Las mutaciones mitocondriales afectan los tejidos altamente dependientes del metabolismo oxidativo, tales como la retina, el SNC, el corazón y el riñón. En los pacientes con la mutación ND4/11778A se produce una reducción menos severa de la función del complejo I que en aquellos que poseen la ND1/3460 y se ha estudiado que el defecto puede afectar la interacción de las enzimas productoras del NADH con el complejo I y la afinidad del complejo I por la ubiquinona^{12,13}. Se han hecho estudios para comprender la bioquímica de las células afectadas por las mutaciones que causan LHON, usando híbridos citoplasmáticos construidos con células rho0106 sin mitocondrias a las cuales se les introducen mitocondrias de individuos afectados. En estos estudios se ha concluido que las mutaciones de la posición 14484 producen una reducción en la transferencia de electrones y en la síntesis de ATP del complejo I¹⁴. En un estudio reciente se encontró que las mutaciones LHON alteran severamente la síntesis de ATP dependiente del complejo I y se observó que la mutación 11778 induce un desdoblamiento de la respiración en el híbrido, mientras que las mutaciones 3460 y la 14484 afectan la velocidad del consumo del oxígeno¹⁵. Las mutaciones que causan LHON también confieren un estímulo proapoptótico¹⁶. Los híbridos con la mutación 11778 tenían una reducción de un 40% en la respiración dependiente de la NADH dehidrogenasa y los portadores de la mutación 14459 tuvieron una reducción de un 39% en la actividad del complejo I¹⁷. El estrés oxidativo induce la apoptosis en las células portadoras de las mutaciones LHON¹⁸. Si se someten híbridos a un medio proapoptótico como la galactosa (que induce el estrés oxidativo), se evidencia una muerte desencadenada por el agotamiento rápido de ATP y mediada por el factor inductor de la apoptosis y la endonucleasa G¹⁹. Además se ha visto una disminución en las defensas antioxidantes (superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y glutatión reductasa) en las células portadoras de mutaciones LHON²⁰. En los estudios con híbridos también se han encontrado alteraciones en el proceso de transcripción; la aldosa reductasa se

sobreexpresa, al igual que en la retinopatía diabética. El sorbitol que es uno de los productos de la aldosa reductasa se vincula con el estrés osmótico, el estrés oxidativo y la neuropatía óptica. Si esto se confirma en los tejidos de los pacientes, los inhibidores de la aldosa reductasa podrían tener algún valor terapéutico en el futuro²¹.

Genética

La neuropatía óptica de Leber se caracteriza por ser de herencia materna, producida por mutaciones puntuales en el cromosoma mitocondrial, de genotipo predominantemente homoplásmico y de baja penetrancia. La herencia de esta enfermedad es materna dado que las mitocondrias de una persona derivan del citoplasma del óvulo. Cada mitocondria contiene de dos a diez copias de ADN circular donde se localizan los genes, que codifican para 13 de las 67 proteínas que componen la cadena respiratoria, así como el ARN de transferencia y el ARN ribosomal que se necesitan para la síntesis de las proteínas.

Las mutaciones que se asocian más comúnmente a la LHON se encuentran en los pares de bases 11778, 3460 Y 14484 del cromosoma mitocondrial y ese orden concuerda con su potencial para producir enfermedad de mayor a menor. Estas mutaciones afectan el complejo I del ADN mitocondrial o los genes de la ubiquinona oxidoreductasa (ND). Los pacientes que tienen cualquier mutación asociada a LHON pero no presentan la enfermedad hacen que se cuestione si existe una relación de causalidad entre el genotipo y el fenotipo. Ninguna de estas mutaciones principales ya mencionadas ocurre simultáneamente. La presencia de una de estas mutaciones aumenta la probabilidad de ceguera. Las mutaciones secundarias son las que se han asociado a pacientes con LHON, pero que también están presentes, en menor proporción, en personas no afectadas. Varias mutaciones secundarias pueden ocurrir simultáneamente o junto con mutaciones primarias. Se ha propuesto que las mutaciones secundarias actúan en forma sinérgica y que pueden aumentar la incidencia de LHON cada vez que una mutación adicional se acumula en un linaje²². Los hallazgos oftalmológicos y el pronóstico de los pacientes con LHON parece ser independiente de las mutaciones secundarias. El hecho de que los gemelos monocigóticos presenten la enfermedad con un intervalo de tiempo largo el uno del otro hace pensar que factores epigenéticos también afectan la susceptibilidad de la enfermedad. (para obtener una lista completa de las mutaciones encontradas para LHON, se puede buscar en MITOMAP, <http://www.gen.emory.edu/mitomap.html>).

Heteroplasmia y Homoplasmia

La presencia simultánea de mtDNA mutante y no mutante en un tejido o una línea celular se denomina heteroplasmia y la presencia de sólo un tipo de mtDNA se denomina homoplasmia. Las mutaciones mitocondriales son generalmente heteroplásmicas, sin embargo en el caso de la LHON, la mayoría son homoplásmicas. La heteroplasmia es de un 15%^{23,24}. La heteroplasmia puede variar mucho entre generaciones o entre personas de la misma generación, porque cuando una célula se divide, las mitocondrias se distribuyen al azar en las células hijas (segregación replicativa). La proporción de mtDNA mutante puede cambiar en las células hijas aumentando, disminuyendo o desapareciendo. La opinión dominante acerca de la existencia de selección al momento de la segregación replicativa en el caso los pacientes con LHON o

portadores, es que la proporción de alelos mutados y de alelos no mutados se mantiene estable en los leucocitos, implicando la ausencia de selección²⁵. No obstante, se ha visto en algunas familias que el grado de heteroplasmia aumenta en las nuevas generaciones, sugiriendo una presión de selección positiva para el alelo mutado^{24,26}. El grado de heteroplasmia de un paciente determina si va a expresar la enfermedad y el grado de severidad que ésta va a tener. Es difícil determinar el grado de heteroplasmia que un paciente debe tener para expresar la enfermedad, pero se ha dicho que con un 70% del mtDNA mutado en la sangre, la enfermedad se expresa²⁷. A pesar de esto, se han reportado casos de pacientes con un porcentaje menor de alelos mutados. Se ha propuesto que el nivel de mtDNA mutada puede cambiar a lo largo de la vida^{28,29}.

La homoplasmia no significa que la enfermedad se va a desarrollar. Las familias homoplásmicas para las tres mutaciones más comunes muestran una penetrancia reducida, con un porcentaje de parientes afectados de un 33-60% para la mutación en pb 11778, 14-40% para la que se encuentra en pb 3460 y un 27-80% para la mutación en pb 14484^{3,30}.

Discusión

La neuropatía óptica hereditaria de Leber es descrita como una enfermedad muy rara en la literatura mundial. La prevalencia de esta enfermedad se desconoce en el país, ya que hasta este momento no se había diagnosticado ningún paciente con esta patología. La LHON se debe tomar en cuenta en los casos de ceguera en jóvenes, sobretodo si se sospecha una forma hereditaria. Aunque todavía no existe ningún tratamiento para la LHON, el diagnóstico de esta enfermedad permite ofrecer el consejo genético apropiado al paciente y a su familia. Debido a que cada mutación tiene una presentación clínica con diferente severidad y pronóstico, se hace necesario hacer el diagnóstico molecular en cada caso. Por ejemplo, la mutación np 11778 se asocia con un deterioro visual mayor y un menor porcentaje de recuperación espontánea que en las demás mutaciones; por el contrario, la np 14484 permite contar dedos y el porcentaje de recuperación espontánea es de un 37% a los 16 meses de evolución del cuadro. La existencia de una familia costarricense con LHON debe alertar a los médicos sobre esta posibilidad diagnóstica en cuadros similares a los anteriormente descritos, por lo que consideramos indispensable, que se conozca ampliamente la forma de presentación, el curso, el diagnóstico y el pronóstico de esta enfermedad.

El diagnóstico clínico y molecular también permitiría iniciar una serie de investigaciones acerca de los diferentes aspectos de esta patología en nuestro país, contribuyendo al conocimiento médico nacional e internacional.

Agradecimientos

Agradecemos al personal del laboratorio #5 del Instituto de Investigaciones en Salud (INISA) de la Universidad de Costa Rica por orientarnos sobre la genética y la biología molecular de este tema y por revisar el manuscrito original.

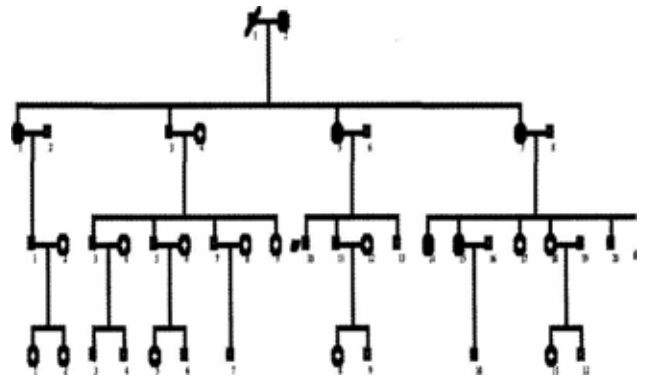


Figura 1. Genealogía de la primera familia costarricense con LHON. Se aprecia la herencia mitocondrial típica, en la cual la mutación es transmitida por la madre y ambos sexos pueden estar afectados. Nótese que los afectados masculinos no le heredan la mutación a sus descendientes.

Figure 1. Pedigree of the first costarrican family with LHON. A typical mitochondrial pedigree pattern. The mutation is maternally inherited and both sexes can be affected. Note that the affected men don't transmit the mutation to their offspring.

Referencias Bibliográficas

- Huoponen, K. *Leber hereditary optic neuropathy: clinical and molecular genetic findings. Neurogenetics.* 2001 3: 119-125.
- Newman, NI *Leber's hereditary optic neuropathy. New genetic considerations. Arch. Neurol.* 1993 50: 540-548.
- Newman, NI y al. *The clinical characteristics of pedigrees of Leber's hereditary optic neuropathy with the 11778 mutation. Am. J. Ophthalmol.* 1991 111: 750-762.
- Johns, O.R. y al. *Leber's hereditary optic neuropathy. Clinical manifestations of the 14484 mutation. Arch. Ophthalmol.* 1993 111: 495-498.
- Nikoskelainen, E. y al. *Pre-excitation syndrome and Leber's hereditary optic neuropathy. Lancet.* 1985 1: 696.
- Ortiz, R. G. y al. *Variable retinal and neurologic manifestations in patients harboring the mitochondrial DNA 8993 mutation. Arch. Ophthalmol.* 1993 111: 1525-1530.
- Cullom, M. E. Y al. *Leber's hereditary optic neuropathy masquerading as tobacco-alcohol amblyopia. Arch. Ophthalmol.* 1993 111: 1482-1485.
- Funalot, B. y al. *Leigh-like encephalopathy complicating Leber's hereditary optic neuropathy. Ann. Neurol.* 2002 52: 374-377.
- Newman-Toker, O. E. y al. *Recurrent vision loss in leber hereditary optic neuropathy. Arch. Ophthalmol.* 2003 232: 288-291.
- Barboni, P. y al. *Retinal nerve fiber layer evaluation by optical coherence tomography in Leber's hereditary optic neuropathy. Ophthalmol.* 2005 112: 120-126.
- Savini, G. y al. *Retinal nerve fiber layer evaluation by optical coherence tomography in unaffected carriers with Leber's hereditary optic neuropathy mutations.*
- Larsson, N. G. y al. *Leber's hereditary optic neuropathy and complex I deficiency in muscle. Ann. Neurol.* 1991 30: 701-708.
- Majander, A. *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.

14. Parker, W.D. A defect in mitochondrial electron-transport activity (NADH-Coenzyme Q oxidoreductase) in Leber's hereditary optic neuropathy. *New Eng. J. Med.* 1989 320: 1331-1333.
15. Baracca, A. Severe impairment of complex I-driven adenosine triphosphate synthesis in leber hereditary optic neuropathy cybrids. *Arch. Neurol.* 2005 62: 730-736.
16. Danielson, S. R. y al. Cells bearing mutations causing Leber's hereditary optic neuropathy are sensitized to Fas- induced apoptosis. *J. Biol. Chem.* 2002 277: 5810- 5815.
17. Wong, A. y al. Differentiation- specific effects of LHON mutations introduced into neuronal NT2 cells. *Hum. Molec. Genet.* 2002 11: 431-438.
18. Battisti, C. y al. Cell response to oxidative stress induced apoptosis in patients with Leber's hereditary optic neuropathy. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 2004 75: 1731-1736.
19. Zanna, C. yal. Caspase-independent death of Leber's hereditary optic neuropathy cybrids is driven by energetic failure and mediated by AIF and Endonuclease G. *Apoptosis.* 2005 10: 997-1007.
20. Floreani, M. y al. Antioxidant defenses in cybrids harbouring mtDNA mutations associated with Leber's hereditary optic neuropathy. *FEBS. J.* 2005 272: 1124-1135.
21. Danielson, SR. y al. Isolation of transcriptomal changes attributable to LHON mutations and the cybridization process. *Brain.* 2005 128: 1026-1037.
22. Brown, M. D. Y al. Leber's hereditary optic neuropathy: a model for mitochondrial neurodegenerative diseases. *FASEB. J.* 1992 6: 2791-2799.
23. Vilkki, J. y al. Segregation of mitochondrial genomes in a heteroplasmic lineage with Leber hereditary optic neuropathy. *Am. J. Hum. Genet.* 1990 47: 95-100.
24. Smith, KH y al. Heteroplasmy in Leber's hereditary optic neuropathy. *Arch. Ophtal.* 1993 111: 1486-1490.
25. Jacobi, F. K. y al. Segregation patterns and heteroplasmy prevalence in Leber's hereditary optic neuropathy. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2001 42: 1208-1214.
26. Howell, N. A heteroplasmic LHON family: tissue distribution and transmission of the 11778 mutation. *Am. J. Hum. Genet.* 1994 55: 203-206.
27. Tanaka, A. y al. A family with Leber's hereditary optic neuropathy with mitochondrial DNA heteroplasmy related to disease expression. *J. Neuro-ophtalmol.* 1998 18: 81-83.
28. Larsson, N-G. y al. Progressive increase of the mutated mitochondrial DNA fraction in Kearns-Sayre syndrome. *Pediatr. Res.* 1990 28: 131-136.
29. Weber, K. yal. A new mtDNA mutation showing accumulation with time and restriction to skeletal muscle. *Am. J. Hum. Genet.* 199760: 373-380.
30. Johns, D. R. y al. Leber's hereditary optic neuropathy. Clinical manifestations of the 14484 mutation. *Arch. Ophtal.* 1993 111: 495-498.