

## DISABILITÀ VISIVA NELLA NEUROPATIA OTTICA EREDITARIA DI LEBER: DALLA DIAGNOSI PRECOCE ALLA RIABILITAZIONE

Silvana GUERRIERO, Vittoria PETRUZZELLA, Stefano ZOCCOLELLA, Gabriella LA TEGOLA, Maria TROJANO, Carlo SBORGIA

Dipartimento di Scienze Mediche di Base, Neuroscienze ed Organi di Senso, Università degli Studi di Bari, Bari

265

ABSTRACT

Leber's hereditary optic neuropathy is a rare disease caused by mutations in mitochondrial DNA. It predominantly affects young males causing acute or sub acute loss of vision, with outcome in optic atrophy. The authors describe in the article the main causative mutations,

clinical symptoms in different phenotypic manifestations, methods of clinical diagnosis, therapies, and finally illustrate their cases.

*Ottica fisiopat 2013; XVIII: 265-271*

### INTRODUZIONE

La Neuropatia Ottica Ereditaria di Leber (Leber's hereditary optic Neuropathy, LHON) è una malattia rara che colpisce prevalentemente giovani di sesso maschile, caratterizzata dalla perdita acuta o subacuta della visione centrale con esito in atrofia ottica. È stato stimato che la LHON causa lo 0.5-2% dei casi di invalidità visiva grave nei paesi industrializzati ed ha una prevalenza stimata in 1/50.000. Descritta per la prima volta nel 1871 dall'oftalmologo tedesco Theodor Leber (1840-1917)<sup>1</sup>, la malattia presenta le caratteristiche della trasmissione materna, anche se a volte si manifesta in modo sporadico. Imai e Moriwaki (1936)<sup>2</sup> ne ipotizzarono una trasmissione citoplasmatica, ma successivamente Wallace e collaboratori dimostrarono invece che il DNA mitocondriale è ereditato per via materna (Giles et al, 1980<sup>3</sup>; Case and Wallace 1981<sup>4</sup>) e aprirono nuove prospettive euristiche

nella comprensione del significato patogenetico di mutazioni del genoma mitocondriale. Nel 1988, infatti, provarono che nella maggior parte delle famiglie in cui si manifestava la LHON compariva la mutazione mitocondriale al nucleotide 11778, indipendentemente dal background di sequenza del mtDNA (Singh et al, 1989)<sup>5</sup>.

Ad oggi sono state individuate almeno diciannove mutazioni missenso di componenti strutturali della catena respiratoria codificati dal mtDNA, coinvolte nella patogenesi e localizzate nelle seguenti posizioni nucleotidiche: 14459, 11778, 3460, 14484, 15257, 9438, 9804, 13730, 4160, 5244, 7444, 3394, 13708, 15812, 4917, 4216, 4136, 9101, 10663. L'insorgenza della patologia avviene per lo più tra i 16-30 anni ma gli individui possono essere colpiti a qualsiasi età (Carelli et al, 2004)<sup>6</sup>, durante la prima infanzia o a più di sessanta anni (Zoccolella et al, 2010)<sup>7</sup>. La sintomatologia è caratterizzata da riduzione dell'acuità visiva,

### RINGRAZIAMENTI

L'articolo è stato scritto grazie al supporto dalla Fondazione Cassa di Risparmio di Puglia, progetto 2010.

### AUTORE CORRISPONDENTE

Silvana Guerriero  
Università di Bari,  
Piazza Giulio Cesare 11  
70124 Bari  
Tel. 338 4025916  
Fax 080 5478918  
silvanaguerriero@gmail.com

### PAROLE CHIAVE:

neuropatia ottica di Leber, DNA mitocondriale, Idebeneone.

### KEY WORDS:

Leber hereditary optic neuropathy, Mitochondrial DNA, Idebeneone.

fig. 1

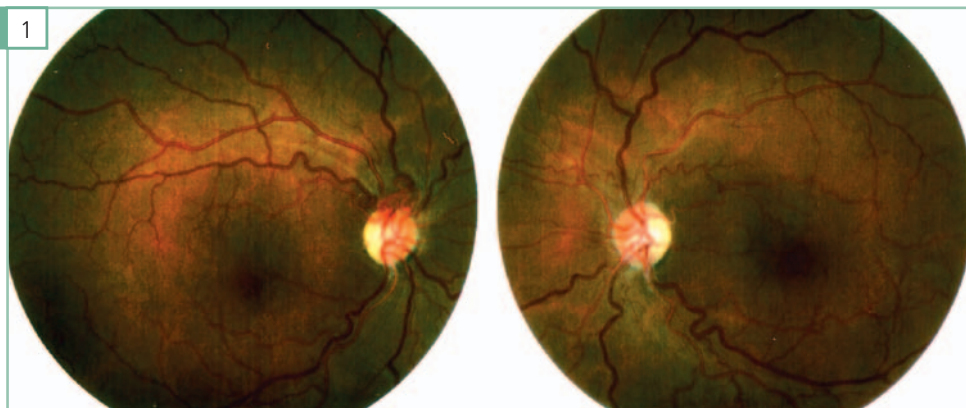


fig. 1  
Retinografia:  
pseudo-  
papilledema  
e teleangiectasie  
vasali.

monolaterale o bilaterale, rapidamente progressiva; gli occhi possono essere interessati simultaneamente, oppure in modo sequenziale, con un intervallo medio di circa due mesi. Sono state descritte forme monolaterali.

La perdita della vista può essere improvvisa e completa, oppure si verifica un graduale declino, con una progressione media di circa 3,7 mesi. Il visus finale può andare da 20/30 fino alla non percezione della luce; alcune mutazioni, definite meno severe, hanno conseguenze cliniche minori.

La malattia colpisce lo strato delle cellule gangliari della retina (Newman et al, 1991)<sup>8</sup>, in particolare quelle del fascio papillo-maculare e l'esame oftalmoscopico può mostrare in fase acuta un nervo ottico iperemico a margini sfumati (pseudoedema) con microteleangiectasie (dilatazioni e tortuosità) dei vasi para papillari ed un ispessimento delle fibre nervose del fascio papillo-maculare (Nikoskelanien et al, 1996)<sup>9</sup> (Fig 1). Queste caratteristiche cliniche si osservano nel 58% dei pazienti che portano la mutazione al nucleotide 11778 e occasionalmente anche in parenti materni asintomatici.

La fluorangiografia conferma l'assenza di un vero edema del disco. Hupponen (1991)<sup>10</sup> ha evidenziato che

la microangiopatia presente nella fase preclinica, nella progressione della malattia si riduce fino a scomparire nella fase finale. Lo stesso autore ipotizza, pertanto, che la patologia sia primariamente di tipo vascolare e a carico del disco ottico. Nella fase finale, tutto il disco ottico o la sua porzione temporale diventano atrofici. Una maculopatia, identica a quella che si osserva nella malattia di Stargardt è stata riportata in pazienti LHON con le mutazioni 11778 e 15257. La maculopatia è responsabile delle alterazioni a volte riscontrabili con l'elettroretinogramma.

All'esame istologico il nervo ottico mostra segni di atrofia con degenerazione e riduzione assonale e modificazione della morfologia assoplasmica (Sadun et al, 2000)<sup>11</sup>: si verifica la perdita preferenziale degli assoni più piccoli, che corrispondono alle cellule P, localizzate nella parte centrale del nervo. Questo potrebbe spiegare la discromatopsia, lo scotoma centrale e la conservazione della risposta pupillare alla luce.

Il coinvolgimento di queste fibre non è specifico della LHON, ma si verifica in tutte le neuropatie ottiche congenite ed acquisite. Anomalie mieliniche, come l'assottigliamento della mielina, sono state osservate nella porzione postlaminare

mielinizzata del nervo ottico. Nel corso della LHON si assiste ad una forte riduzione del numero delle cellule ganglionari del fascio papillo maculare.

La specificità tissutale del danno biochimico potrebbe dipendere dal fatto che probabilmente il difetto di produzione di energia mitocondriale è limitante nei neuroni ottici che richiedono grandi quantità di energia, e che non hanno inoltre efficaci sistemi di smaltimento dei radicali liberi dell'ossigeno causati dal difetto respiratorio.

Nella maggior parte dei casi il deficit visivo è permanente. Un pathway di morte cellulare, probabilmente apoptotica, è infatti responsabile di una estesa ed irreversibile degenerazione dello strato delle cellule gangliari e del nervo ottico (Howell, 1997)<sup>12</sup>. In alcuni casi si riscontrano dei miglioramenti spontanei, che non portano comunque ad un completo recupero. L'intervallo tra l'esordio e l'eventuale recupero visivo dipende dalla mutazione ed è compreso tra i 16 ed i 68 mesi.

Sebbene la perdita della vista sia generalmente l'unica presentazione clinica della LHON, i pazienti affetti e alcuni parenti materni possono manifestare molteplici sintomi ausiliari. Fra questi, alterazioni della conduzione cardiaca (per es. la sindrome di pre-eccitazione, la sindrome di Wolff-Parkinson-White e la sindrome di Lown-Ganong-Levine) si riscontrano soprattutto in pazienti finlandesi e giapponesi che portano la mutazione 11778 (Nikoskelainen et al, 1985<sup>13</sup>; Mashima et al, 1996<sup>14</sup>). La frequenza delle alterazioni cardiache è dell'8-9%.

Sono state descritte alterazioni minori scheletriche e neurologiche, come atassia, tremore, distonia, riflessi alterati, neuropatia sensoria, sordità.

Le anomalie neurologiche sono a volte asintomatiche e si evidenziano unicamente con esami strumentali (MRI); fra queste si può riscontrare la calcificazione del putamen.

Le manifestazioni neurologiche associate alla LHON a volte sono indistinguibili da quelle della distrofia muscolare. Inoltre è emerso che in alcune famiglie la mutazione 11778 può essere associata a sclerosi multipla (Harding et al, 1992<sup>15</sup>; Newman et al, 1991<sup>16</sup>).

Con il termine di "Leber plus" si indica l'associazione tra LHON e le sindromi tipo distrofia muscolare. La relazione tra le due patologie è ancora poco chiara.

A differenza delle altre malattie neurologiche mitocondriali, le biopsie muscolari non presentano di norma fibre ragged-red.

I pazienti affetti da LHON presentano una normale aspettativa di vita.

### Diagnosi clinica

Il sospetto clinico è rilevato attraverso:

- l'esame morfologico della papilla ottica (OCT), atto a valutare l'entità della deplezione delle fibre nervose costituenti il nervo ottico
- esame PEV multifocale, capace di rilevare variazioni dei potenziali bio-elettrici della corteccia occipitale evocati da stimoli visivi
- CVC che valuta lo stato funzionale della retina e l'integrità delle vie nervose che originano dalla retina e viene confermato dalle indagini molecolari del DNA mitocondriale.

## Genetica

Il fenotipo LHON è associato, nel 90% dei casi, a tre mutazioni omoplasmiche del DNA mitocondriale, m.11778G>A, m.14484T>C e m.3460G>A rispettivamente in MT-ND4, MT-ND6, e MT-ND1, geni che codificano per subunità del complesso I della catena respiratoria mitocondriale. Tali mutazioni sono definite "primarie" perché associate a un alto rischio di sviluppare la malattia ma non sufficienti a causarla. La mutazione più frequente è la m.11778G>A (50-70%) seguita dalla m.14484T>C (10-15%) e infine dalla m.3460G>A (8-15%) (Taylor et al, 2003). Lo spettro delle mutazioni del mtDNA che causano il restante 10% è tuttavia ancora poco chiaro. Sono state rilevate, infatti, altre mutazioni, definite mutazioni "secondarie", che possono aumentare il potenziale patogenetico e la penetranza delle mutazioni primarie (Sadun et al, 2011)<sup>17</sup>. Studi recenti hanno evidenziato che altre varianti nucleotidiche presenti in MT-ND1, ND4 e ND6 possono essere considerate come "primarie", il che rende tali regioni geniche hot spot mutazionali per LHON (Achilli et al, 2012)<sup>18</sup>.

La penetranza della malattia è molto variabile anche in soggetti della stessa famiglia con identico patrimonio genetico mitocondriale: si è visto, infatti, che solo circa il 10% delle donne e il 50% dei maschi portatori di una delle tre mutazioni primarie sviluppa la neuropatia ottica.

Per questo motivo le sole mutazioni del mtDNA non possono spiegare esaurientemente la patogenesi della

LHON: la penetranza e l'espressività variabile nella popolazione suggeriscono il coinvolgimento di altri fattori, che si possono definire "modificatori", in grado di concorrere, insieme alle mutazioni mitocondriali, al processo patogenetico. Potrebbero svolgere il ruolo di modificatori: lo stesso background di mtDNA, il background genetico nucleare, i fattori ambientali (Carelli et al, 2003)<sup>19</sup>. Aplotipi diversi mitocondriali, ovvero combinazioni di polimorfismi, potrebbero influenzare la funzionalità dei complessi respiratori, condizionando, quindi, la penetranza delle mutazioni mitocondriali patogenetiche.

Il background genetico nucleare, ovvero la contemporanea presenza di mutazione in geni nucleari, potrebbe svolgere un ruolo importante nella manifestazione della malattia causando variazioni funzionali di prodotti indispensabili al metabolismo mitocondriale.

La prevalenza nel genere maschile suggerisce il coinvolgimento di geni modificatori posti sul cromosoma X. Questa ipotesi suggerita da Budenz e Rotter, 1991<sup>20</sup>, è stata però successivamente smentita da studi di Chen e Denton, 1991<sup>21</sup>.

Altra spiegazione data è stata il più alto tasso metabolico nel sesso maschile e quindi ad una minore soglia patogenetica, oppure ad una influenza protettiva esercitata dagli estrogeni (Mize et al, 2003)<sup>22</sup>. Inoltre l'esposizione a fattori di rischio ambientali e l'abuso di tabacco, alcool, droghe, può condizionare la comparsa o l'evoluzione del quadro clinico.

### Terapia

A tutt'oggi non esiste alcun trattamento efficace per la LHON tuttavia alcuni pazienti sembrano beneficiare del trattamento con l'antiossidante Idebenone (Mnesis®, Takeda Italia Farmaceutici), precursore del Coenzima Q10. La dose media è stata di 540-675 mg/die, per periodi di tempo prolungati, con monitoraggio periodico della funzionalità epatica e renale. Questo farmaco a tutt'oggi è considerato l'unico a poter interferire con l'andamento della patologia in esame (Carelli 2011)<sup>23</sup>.

Ancora scarsi dati clinici si hanno sull'utilizzo di farmaci antiossidanti come l'alfa-tocotrienol-chinone, metabolita della vit E, e su farmaci come il Glutathione, la Brimonidina, la minociclina e la curcumina.

### Riabilitazione

Non ci sono in letteratura descrizione di casi di terapia riabilitativa in pazienti affetti da LHON.

Presso la clinica oculistica di Bari, in pazienti affetti da LHON con residuo visivo di almeno 2/20, è stata eseguita una micro perimetria (programma: peripapillare con strategia soglia fast; n. 6 stimoli per ogni direzione radiale e 1° di distanza tra gli stimoli) a cui ha fatto seguito lo studio dell'eventuale PRL e poi il tipo di fissazione. Non essendoci un punto preferenziale di fissazione, per una ragione prettamente fisiologica, si è preferito riabilitare il centro maculare in modo tale da non stravolgere il già precario equilibrio visivo.

Al termine delle otto sedute riabilitative previste, effettuate con biofeedback sonoro, il miglioramento visivo è

stato impercettibile, ma sicuramente apprezzato dai pazienti, soprattutto in termini di qualità del contrasto.

Per i pazienti "portatori sani" viene consigliato un regime di vita (astensione al fumo, ad alcolici) e un'attenzione all'assunzione di farmaci (alcuni diuretici, antibiotici) e all'esposizione a sostanze tossiche (solventi) che potrebbero contribuire alla manifestazione della malattia.

### Casistica

Il numero totale dei soggetti con sospetto clinico di LHON pervenuti Presso il Dipartimento di Neuroscienze ed Organi di senso dell'Università di Bari è di trentasette individui (25 maschi e 12 femmine), alcuni dei quali appartenenti allo stesso nucleo familiare (in totale le famiglie riferite sono sette). Tali pazienti sono pervenuti dal 2003 al 2013 presso la Clinica Oculistica del Policlinico di Bari e sono stati sottoposti, previo consenso informato, ad uno screening e ad un lungo periodo di follow-up. Su di essi, al fine di definire la diagnosi dei pazienti, sono stati eseguiti esami neurologici, esami oftalmologici morfologici e funzionali e indagini genetico-molecolari. La diagnosi molecolare di LHON è stata eseguita effettuando uno screening iniziale per l'identificazione delle tre principali mutazioni primarie della LHON: m.14484T>C, nel gene ND6, m.11778G>A, nel gene ND4 e m.3460 A>G, nel gene ND1 nel mtDNA; esso è stato eseguito, su ventisette campioni mediante esperimenti di PCR-RFLP e su dieci mediante HRM (High resolution melting). Tali metodiche hanno

rilevato la presenza della mutazione m. 11778G>A in diciassette soggetti, quindici di sesso maschile e due di sesso femminile, sedici casi in omoplasmia e uno in eteroplasmia. È stata inoltre rilevata la presenza della mutazione m.3460G>A in sei soggetti, quattro in omoplasmia e due in eteroplasmia, i soggetti sono tutti appartenenti allo stesso nucleo familiare dimostrando la teoria della familiarità della patologia. Nei restanti quattordici soggetti invece non è stata rilevata alcuna mutazione primaria. Il presente studio ha quindi rilevato che la mutazione primaria più frequente, così come riportato in letteratura, è la m.11778G>A. Sui campioni è stato poi eseguito il sequenziamento diretto delle regioni hotspot MT-ND1, ND4L e ND6 per identificare le mutazioni primarie e rilevare eventuali altre mutazioni. Tale approccio ha permesso di confermare l'effettiva presenza delle mutazioni precedentemente identificate e accertare l'assenza delle mutazioni primarie rare, la cui presenza avrebbe potuto spiegare il quadro clinico che i soggetti presentavano. Tuttavia per i soggetti con forte sospetto clinico LHON, risultati negativi sia per le tre mutazioni primarie che primarie rare, è stato necessario eseguire il sequenziamento diretto dell'intero genoma mitocondriale al fine di rilevare ulteriori mutazioni che potrebbero essere associate al quadro tipico della patologia. Il sequenziamento non ha permesso di evidenziare varianti significative; solo in sei soggetti sono state trovate delle varianti nucleotidiche

quali m.11719A>G e m.11812A>G che sono state sottoposte ad analisi bioinformatica ([www.mitomap.org](http://www.mitomap.org)) da cui è emerso che tali varianti non determinano un cambio aminoacido, in quanto mutazioni sinonime. È necessario ancora comprendere, soprattutto nei casi la cui diagnosi molecolare non dimostra niente di significativo, quali possano essere i fattori coinvolti nella patologia e, nei casi di diagnosi accertati quali possano essere gli elementi che influiscono sul quadro clinico e l'evoluzione della patologia e sulla risposta ad un eventuale trattamento farmacologico. Tutti i pazienti affetti da calo visivo sono stati sottoposti a terapia con idebenone al dosaggio di 540 mg/die. La terapia è stata sospesa da 7 pazienti per insorgenza di disturbi gastro intestinali in 4 e per demotivazione psicologica in 3. Tre pazienti, tutti affetti dalla mutazione 11778, hanno avuto un recupero parziale del visus dopo circa 36 mesi.

## RIASSUNTO

*La neuropatia ottica ereditaria di Leber è una malattia rara causata da mutazioni del DNA mitocondriale. Colpisce prevalentemente i giovani maschi causando perdita acuta o subacuta della visione, con esito in atrofia ottica. Gli Autori descrivono nell'articolo le principali mutazioni patogenetiche, la sintomatologia clinica nelle diverse manifestazioni fenotipiche, le metodiche di diagnosi clinica, le terapie, ed illustrano infine la loro casistica.*

**BIBLIOGRAFIA**

- 1) Leber T. *Über hereditäre und congenital angelegte Sehnervenleiden*. Albrecht Von Graefes Arch Ophthalmol **17**: 249-291, 1871
- 2) Imai Y, Moriwaki DJ *A probable case of cytoplasmic inheritance in man: A critique of Leber's disease*. J Genet **33**: 163-167.
- 3) Giles R E, Blanc H, Cann HM, Wallace DC. Proc Nat Acad. Sci **77**: 6715-6719, 1980
- 4) Case JT, Wallace DC. *Maternal inheritance of mtDN.A polymorphisms in cultured humans fibroblasts*, Somat. Cell Genet **7**, 103-108, 1981
- 5) Singh G, Lott MT, Wallace DC. *A mitochondrial DNA mutation as a cause of Leber's hereditary optic neuropathy*. New England J Med **320**: 1300-1305, 1989
- 6) Carelli V, Ross-Cisneros FN, Sadun AA. *Mitochondrial dysfunction as a cause of optic neuropathies*. Prog Retin Eye Res **23**: 53-89, 2004
- 7) Zoccollella S, Petruzzella V, Prascina F, Artuso L, Pacillo F, Dell'aglio R, Avolio C, Delle Noci N, Attimonelli M, Specchio LM. *Late-onset Leber hereditary optic neuropathy mimicking Susac's syndrome*. J Neurol 2010 Jul 15
- 8) Newman NJ, Lott MT,Wallace DC. *The clinical characteristics of pedigrees of Leber's Hereditary Optic Neuropathy with the 11778 mutation*. Am J Ophthalmol **111**: 750-762, 1991
- 9) Nikoskelainen EK, Huoponen K, Juvonen V, Lamminen T, K. N, Savontaus ML. *Ophthalmic findings in Leber hereditary optic neuropathy, with special reference to mtDNA mutations*. Ophthalmology **103**: 504-514, 1996
- 10) Huoponen K, Vilkki J, Aula P. *A new mtDNA mutation associated with Leber hereditary optic neuroretinopathy*. Hum Genet **48**: 1147-1153, 1991
- 11) Sadun A, Win PH, Ross-Cisneros, Walker SO, Carelli V. *Leber's hereditary optic neuropathy differentially affects smaller axons in the optic nerve*. Trans Am Ophthal Soc **98**: 223-235, 2000
- 12) Howell N. *Leber hereditary optic neuropathy: how do mitochondrial DNA mutations cause degeneration of the optic nerve?* J Bioenerget Biomemb **29**: 165-173, 1997
- 13) Nikoskelainen E, Wanne O, Dahl M. *Pre-excitation syndrome and Leber's hereditary neuroretinopathy*. Lancet **1**: 696, 1985
- 14) 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 **50**: 535-537, 1996
- 15) Harding AE, Sweeney MG, Miller DH, Mumford GJKellar Wood H, et al. *Occurrence of a multiple sclero- sis-like illness in women who have a Leber's hereditary optic neuropathy mitochondrial DNA mutation*. Brain **115**: 979-989, 1992
- 16) Newman NJ, Lott MT, Wallace DC. *The clinical characteristics of pedigrees of Leber's Hereditary Optic Neuropathy with the 11778 mutation*. Am J Ophthalmol **111**: 750-762, 1991
- 17) Sadun AA, La Morgia C, Carelli V. *Leber's Hereditary Optic Neuropathy*. Curr Treat Options Neurol **13**(1): 109-117, 2011 Feb
- 18) Achilli A, Iommarini L, Olivieri A, Pala M, Hooshar Kashani B, et al. *Rare Primary Mitochondrial DNA Mutations and Probable Synergistic Variants in Leber's Hereditary Optic Neuropathy*. PLoS One 2012;7(8):e42242. doi: 10.1371/journal.pone.0042242. Epub 2012 Aug 3
- 19) Carelli V, Giuordano C, D'Amati. *Pathogenic expression of homoplasmic mtDNA mutations needs a complex nuclear-mitochondrial interaction*. Trends Genetic **19**(5): 257-262 2003
- 20) Budenz DL, Chang RT, Huang X, Knighton RW, Tielsch JM. *Reproducibility of retinal nerve fiber thickness measurements using the Stratus OCT in normal and glaucomatous eyes*. Invest Ophthalmol Vis Sci **46**: 2440-2443, 2005
- 21) Chen JD, Denton MJ. *X-chromosomal gene in Leber hereditary optic neuroretinopathy*. Am J Human Genet **48**: 692-693, 1991
- 22) Mize AL, Shapiro RA, Dorsa DM. *Endogenously expressed estrogen receptors mediate neuroprotection in hippocampal cells (HT22)*. Endocrinology **144**: 306-312, 2003
- 23) Carelli V, La Morgia C, Valentino ML, Rizzo G, et al. *Idebenone treatment in Leber's hereditary optic neuropathy*. Brain 2011 Sep;134(Pt 9):e188. doi: 10.1093/brain/awr180. Epub 2011 Aug 2