



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE MEDICINA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE  
POSGRADO**

**INSTITUTO DE OFTALMOLOGÍA “FUNDACIÓN CONDE DE  
VALENCIANA” I.A.P.®**

**TITULO TESIS**

**DESCRIPCIÓN FENOTÍPICA RETINIANA ESTRUCTURAL Y  
FUNCIONAL DE AMAUROSIS CONGÉNITA DE LEBER  
ASOCIADA A MUTACIÓN EN EL GEN GUCY2D EN UN  
GRUPO DE PACIENTES MEXICANOS**

**TESIS DE POSGRADO**

**PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALIDAD EN  
OFTALMOLOGÍA  
QUE PRESENTA**

**DRA. DANNA ALEXANDRA ALVIRDE AYALA**

**DIRECTOR DE TESIS**

**DR. RODRIGO MATSUI SERRANO**



**CIUDAD DE MÉXICO**

**2022**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# Descripción fenotípica retiniana estructural y funcional de amaurosis congénita de Leber asociada a mutación en el gen *GUCY2D* en un grupo de pacientes mexicanos

Investigador responsable:

Dra. Danna Alexandra Alvirde Ayala



Residente de tercer año oftalmología general

Investigador asociado y asesor de tesis:

Dr. Rodrigo Matsui Serrano



Departamento de retina y vítreo

Investigador asociado:

Dr. Juan Carlos Zenteno Ruiz



Departamento de genética

## Índice

1.	<u>Título</u>	<u>4</u>
2.	<u>Nombre de los investigadores</u>	<u>4</u>
3.	<u>Resumen estructurado</u>	<u>5</u>
4.	<u>Introducción</u>	<u>7</u>
	a. <u>Amaurosis congénita de Leber</u>	<u>7</u>
	b. <u>Epidemiología</u>	<u>7</u>
	c. <u>Cuadro clínico</u>	<u>7</u>
	d. <u>Diagnóstico</u>	<u>8</u>
	e. <u>Genética</u>	<u>8</u>
	f. <u>LCA asociado a GUCY2D</u>	<u>9</u>
	g. <u>GUCY2D</u>	<u>9</u>
	h. <u>Características fenotípicas retinianas estructurales y funcionales de LCA asociado a GUCY2D</u>	<u>10</u>
	i. <u>Terapia génica</u>	<u>11</u>
5.	<u>Planteamiento del problema</u>	<u>12</u>
6.	<u>Pregunta de investigación</u>	<u>12</u>
7.	<u>Justificación</u>	<u>12</u>
8.	<u>Hipótesis</u>	<u>13</u>
9.	<u>Objetivo general</u>	<u>13</u>
10.	<u>Objetivos específicos</u>	<u>13</u>
11.	<u>Diseño del estudio</u>	<u>13</u>
12.	<u>Materiales y métodos</u>	<u>14</u>
13.	<u>Tamaño de muestra</u>	<u>15</u>
14.	<u>Variables del estudio</u>	<u>16</u>
15.	<u>Análisis estadístico</u>	<u>17</u>
16.	<u>Cronograma de actividades</u>	<u>17</u>
17.	<u>Resultados</u>	<u>17</u>
18.	<u>Discusión</u>	<u>29</u>
19.	<u>Conclusiones</u>	<u>33</u>
20.	<u>Limitaciones del estudio</u>	<u>34</u>
21.	<u>Aspectos éticos</u>	<u>34</u>
22.	<u>Aspectos de bioseguridad</u>	<u>34</u>
23.	<u>Financiamiento de la investigación</u>	<u>35</u>
24.	<u>Declaración de conflicto de intereses de los investigadores</u>	<u>35</u>
25.	<u>Bibliografía</u>	<u>35</u>
26.	<u>Agradecimientos</u>	<u>37</u>

1. Título:

**Descripción fenotípica retiniana  
estructural y funcional de amaurosis  
congénita de Leber asociada a mutación  
en el gen *GUCY2D* en un grupo de  
pacientes mexicanos**

2. Investigador responsable, investigadores asociados o participantes y departamentos y/o instituciones participantes

Investigador responsable: Dra. Danna Alexandra Alvirde Ayala<sup>4</sup>

Investigador asociado y asesor de tesis:

Dr. Rodrigo Matsui Serrano<sup>1,2</sup>

Investigador asociado:

Dr. Juan Carlos Zenteno Ruiz<sup>3</sup>

Departamentos e instituciones participantes:

1 Departamento de retina y vítreo del Instituto de Oftalmología FAP Conde de Valenciana

2 .Clínica de distrofias retinianas

3. Departamento de genética

4 Instituto de Oftalmología Fundación de Asistencia Privada “Conde de Valenciana”

### 3. Resumen estructurado

Las distrofias retinianas hereditarias (IRD de sus siglas en inglés Inherited retinal dystrophies) son un grupo de trastornos degenerativos clínica y genéticamente heterogéneos, entre estas distrofias se encuentra la amaurosis congénita de Leber (LCA). La amaurosis congénita de Leber actualmente es descrita como un grupo de distrofias bastón-cono severas, de inicio infantil temprano, heredadas de más frecuentemente de manera autosómica recesiva.

Se han identificado mutaciones en 26 genes como causantes de LCA / distrofias retinianas severas de inicio temprano (de sus siglas en inglés early-onset severe retinal dystrophy EOSRD); la mayoría se expresan única o predominantemente en la retina o en el epitelio pigmentario de la retina (EPR). Ahora existe una comprensión mucho mayor de las asociaciones estructurales y funcionales observadas en los diversos genotipos de LCA. Se ha demostrado que estos genes codifican proteínas con una amplia gama de funciones retinianas, incluida la fototransducción, el ciclo visual y el desarrollo e integridad de los fotorreceptores.

Uno de los genes asociados con mayor frecuencia es *GUCY2D*, se han identificado 144 variantes de este gen como causa común de distrofia de conos autosómica dominante y distrofia de conos-bastones, se presenta con una frecuencia aproximada de 10-20% de los casos de amaurosis congénita de Leber. El gen *GUCY2D*, codifica para la enzima fotorreceptora guanilato ciclasa-2D retiniana (GC-E), expresada en segmentos externos de fotorreceptores, esta enzima ayuda a sintetizar cGMP necesario para regulación de la fototransducción.

A pesar de los antecedentes genéticos de las variantes *GUCY2D* han sido bastante bien caracterizados, el número de estudios detallados de fenotipado es limitado.

#### Justificación

Las distrofias retinianas hereditarias (IRD) son un grupo de trastornos degenerativos clínica y genéticamente heterogéneos, entre ellas se encuentra la amaurosis congénita de Leber (LCA). Uno de los genes asociados con mayor frecuencia a amaurosis congénita de Leber es *GUCY2D*, se han identificado 144 variantes del gen como causa común de distrofia de conos autosómica dominante y distrofia de conos-bastones, las variantes se han caracterizado genéticamente a profundidad, sin embargo, hacen falta estudios que describan sus características fenotípicas de las variantes. Consideramos importante describir las características fenotípicas retinianas, estructurales y funcionales de los pacientes con mutaciones en el gen *GUCY2D* para así en estudios

posteriores poder compararlos con otras mutaciones asociadas a amaurosis congénita de Leber y ver la posibilidad de que estos pacientes sean manejados los pacientes con terapia génica.

### Hipótesis

Los pacientes con mutación en el gen *GUCY2D* tienen características fenotípicas retinianas estructurales y funcionales similares a las reportadas en los pacientes con mutaciones en otros genes asociados a amaurosis congénita de Leber.

### Objetivo general

Describir las características retinianas fenotípicas, estructurales y funcionales de un grupo pacientes mexicanos con diagnóstico de amaurosis congénita de Leber asociada a alguna variante con mutación en el gen *GUCY2D*.

### Diseño del estudio

Observacional, retrospectivo, transversal y descriptivo.

### Materiales y métodos

Se recolectarán expedientes de pacientes con diagnóstico clínico de amaurosis congénita de Leber debido a una mutación en el gen *GUCY2D* que ya contaban con abordaje por el servicio de genética y la clínica de distrofias, Se describieron los resultados de los estudios realizados a los pacientes, así como de la valoración oftalmológica. Se revisó literatura donde se describían las características clínicas de pacientes con mutaciones diferentes a *GUCY2D* que se encuentran asociados a amaurosis congénita de Leber y se compararon de forma descriptiva con las características observadas en nuestros pacientes.

### Análisis de resultados

Se realizó un análisis por medio de estadística descriptiva, las variables cualitativas son descritas y las variables cuantitativas se plasmaron por medio de medidas estadísticas como media y promedio.

## 4. Introducción

Las distrofias retinianas hereditarias (IRD) son un grupo de trastornos degenerativos clínica y genéticamente heterogéneos, causados por mutaciones genéticas que dan como resultado la degradación de los fotorreceptores o del epitelio pigmentario de la retina. Representan la segunda causa más común de ceguera legal en la infancia y la principal causa entre la población en edad laboral en Inglaterra y Gales<sup>1,2,3</sup>

### Amaurosis congénita de Leber

La amaurosis congénita de Leber (LCA) fue descrita por primera vez por Theodore Leber en 1869, actualmente describe un grupo de distrofias bastón-cono severas, de inicio infantil temprano, heredadas en su mayoría de manera autosómica recesiva, es genética y fenotípicamente heterogénea<sup>2</sup>.

LCA representa la forma más grave de trastornos retinianos hereditarios y se superpone tanto clínica como genéticamente con la distrofia retiniana grave de aparición temprana (EOSRD), que comprende fenotipos más leves<sup>4,5,6</sup>.

### Epidemiología

LCA / EOSRD tiene una prevalencia entre 1 en 33 000 a 1 en 81 000, y se cree que representa  $\geq 5\%$  de todos los IRD y tiene una prevalencia de alrededor del 20% en escuelas de niños con discapacidad visual<sup>2,4,7</sup>.

### Cuadro clínico

La LCA se caracteriza clínicamente por una pérdida visual congénita severa que se presenta en la primera infancia (durante los primeros meses de vida), se asocia con nistagmo o movimientos oculares errantes, respuestas deficientes de la pupila a la luz, es común el signo "oculodigital", en la mayoría de los casos, un electroretinograma de campo completo (ERG) marcadamente reducido o indetectable<sup>2,4,8</sup>.

La tasa de pérdida de la función visual y la agudeza visual en la primera infancia varía notablemente en pacientes con LCA / EOSRD, con ciertos genotipos (p. Ej., GUCY2D y AIPL1 -LCA) que se sabe que son más graves que otros, con una pérdida visual más profunda. Aunque el resultado visual es variable, la visión cuando el niño tiene la edad

suficiente para ser evaluado de manera confiable está en el rango de 3/60 a la percepción de la luz. Dada la pérdida visual a menudo grave y temprana, otras áreas del desarrollo, como el habla, las habilidades sociales y el comportamiento, pueden retrasarse<sup>2</sup>.

Los bebés afectados a menudo tienen hipermetropía alta o, con menos frecuencia, miopía alta, lo que sugiere una emetropización alterada<sup>2</sup>.

El examen del fondo de ojo puede ser normal en el momento de la presentación, pero una variedad de aspectos anormales del fondo de ojo pueden estar presentes o desarrollarse con el tiempo, incluida la palidez del disco, la atenuación de los vasos o la retinopatía pigmentaria periférica leve. También puede haber drusas de disco, edema de disco óptico o pseudopapiledema, retina moteada, maculopatía o pigmentación numular<sup>2</sup>.

La mayoría de los casos de LCA / EOSRD ocurren en bebés por lo demás normales y cualquier síntoma o signo no ocular debe investigarse para detectar distrofias retinianas sindrómicas o enfermedad neurometabólica, generalmente junto con un pediatra.

## Diagnóstico

El diagnóstico diferencial de un lactante con pérdida visual grave y nistagmo es amplio e incluye enfermedades sindrómicas y no sindrómicas. Los diagnósticos diferenciales más importantes para distinguirse de LCA / EOSRD incluyen acromatopsia completa e incompleta, monocromatismo de cono S, ceguera nocturna estacionaria congénita completa e incompleta y albinismo; sin embargo, un examen cuidadoso y una investigación detallada, incluida la electrofisiología, generalmente permiten establecer un diagnóstico preciso, así como también, las pruebas genéticas moleculares pueden permitir un diagnóstico más específico<sup>2</sup>.

## Genética

Antes de la identificación de los genes causantes, los médicos clasificaron a los pacientes en grupos según la herencia mendeliana, la edad de aparición y las características clínicas. El descubrimiento de las causas genéticas subyacentes durante las últimas dos décadas ha llevado a una comprensión mucho mayor de los mecanismos de la enfermedad en la IRD, se han identificado mutaciones en 26 genes como causantes de LCA / EOSRD; la mayoría se expresan única o predominantemente en la retina o en el epitelio pigmentario de la retina (EPR). Ahora existe una comprensión mucho mayor de las asociaciones estructurales y funcionales observadas en los

diversos genotipos de LCA. Se ha demostrado que cada gen codifica alguna proteína que participe en una amplia gama de funciones retinianas, incluida la fototransducción, el ciclo visual y el desarrollo / integridad de los fotorreceptores<sup>2,4</sup>.

Ciertos genes se asocian con mayor frecuencia con LCA, por ejemplo, el gen *GUCY2D* regula la fototransducción, se presenta con una frecuencia aproximada de 10-20%, el gen *CEP290* realiza el transporte ciliar del fotorreceptor, representa en el 15-20%, el gen *CRB1* participa en la morfogénesis del fotorreceptor, es el 10% de los casos, el gen *RDH12* se involucra en el ciclo retinoide, su frecuencia es del 10%, otra de las mutaciones más comunes es en el gen RPE65 que también se involucra en el ciclo del retinoide y su frecuencia es del 5-10%. La variabilidad genética de la LCA y la rareza de la afección hacen que el fenotipado detallado en una cohorte sustancial de pacientes confirmada molecularmente sea un desafío<sup>2,4,5,9</sup>.

#### LCA asociado a *GUCY2D*

*GUCY2D* fue el primer gen que se ha asociado con amaurosis congénita de Leber autosómica recesiva y distrofia de conos y bastones autosómica dominante, es uno de los genes más comunes, y representa aproximadamente el 10% -20% de los casos<sup>2,4,10,11</sup>.

#### *GUCY2D*

Las diferentes variantes de secuencia en *GUCY2D* son causas comunes de distrofia de conos (DQO) autosómica dominante (EA) y distrofia de conos-bastones (DOC)<sup>4</sup>.

Se sabe que *GUCY2D* codifica para la enzima fotorreceptora guanilato ciclasa-2D retiniana (GC-E), expresada en segmentos externos de fotorreceptores, en mayor grado en conos que en bastones. *GUCY2D* codifica la enzima fotorreceptora guanilato ciclasa 2D (GC-E), que sintetiza el mensajero intracelular de la excitación del fotorreceptor, cGMP, y está regulada por proteínas intracelulares sensoras de Ca<sup>2+</sup> llamadas proteínas activadoras de guanilato ciclasa (GCAP)<sup>2,4,11</sup>.

Hasta la fecha hay 144 variantes identificadas en *GUCY2D*, con la mayoría reportada como causante de LCA / EOSRD (127 variantes, 88%) y solo 13 reportada como causante de AD-COD o AD-CORD. Todas las variantes de AD-COD / CORD están ubicadas en el exón 13 (alrededor de la posición del aminoácido 838) que afectan al dominio de dimerización de GC-E. Por el contrario, las variantes notificadas como

causantes de LCA no tienen un punto caliente de localización, sino que están dispersas a lo largo de todo el gen.

Las variantes que causan LCA / EOSRD generalmente muestran una capacidad reducida o una incapacidad completa para sintetizar el mensajero intracelular cGMP. Además, algunas variantes que causan LCA / EOSRD dan como resultado un plegamiento incorrecto y la consiguiente degradación de la proteína en el retículo endoplásmico. Por el contrario, las variantes que causan DQO / CORD son funcionales pero provocan un cambio en la sensibilidad al  $Ca^{2+}$ .<sup>2,4,12</sup>.

A pesar de los antecedentes genéticos bastante bien caracterizados de *GUCY2D*-LCA / EOSRD, el número de estudios detallados de fenotipado es limitado. Estudios de fenotipado previos identificaron evidencia de estructura de fotorreceptores preservada, en contraste con los hallazgos funcionales severamente afectados de *GUCY2D*-LCA / EOSRD.<sup>2,4</sup>.

Se sabe que esta enzima juega un papel importante en la recuperación de fotorreceptores después de la fototransducción, por lo que las variantes que causan enfermedades en *GUCY2D* y la posterior deficiencia de la enzima dan como resultado el equivalente bioquímico de la exposición crónica a la luz.<sup>2,4</sup>

#### Características fenotípicas retinianas estructurales y funcionales de LCA asociado a *GUCY2D*

Los pacientes con LCA asociado a *GUCY2D* a menudo tienen un fondo de ojo relativamente normal y también experimentan una fotofobia significativa en contraste con la mayoría de los otros genotipos de LCA / EOSRD. Puede haber una estructura de fotorreceptor / retina externa relativamente conservada en la tomografía de coherencia óptica (OCT) en muchos pacientes, aunque se han observado anomalías del segmento externo del cono foveal y pérdida del cono foveal. En contraste con otras formas de LCA / EOSRD que tienen un fenotipo de distrofia bastón-cono, en la enfermedad *GUCY2D* los pacientes a menudo retienen una función sustancial de bastón, con un subconjunto más pequeño que tiene función de cono detectable pero reducida (es decir, enfermedad de cono-bastón), basada sobre ERG, evaluaciones psicofísicas y pruebas de movilidad guiadas por visión. Debido a que la mayoría de los pacientes carecen de visión mediada por conos, los pacientes a menudo presentan una agudeza visual notablemente reducida y una falta de percepción del color.<sup>2,10,13</sup>.

La agudeza visual reducida es una fuente de morbilidad de por vida para los pacientes con LCA / EOSRD, y la discapacidad visual se ha asociado significativamente con un mayor riesgo de mortalidad<sup>4</sup>.

## Terapia génica

El desarrollo / caracterización posterior de modelos animales LCA / EOSRD ha arrojado luz información sobre la patogénesis subyacente y ha permitido la demostración de un rescate exitoso con terapia de reemplazo génico e intervención farmacológica en múltiples modelos. La terapia génica tiene el potencial de revertir la enfermedad o prevenir un mayor deterioro de la visión en pacientes con degeneración retiniana hereditaria incurable. Los avances logrados han culminado en más de 12 ensayos clínicos farmacológicos y de terapia génica en fase I / II y fase III completados, en curso y anticipado. Los vectores virales adenoasociados fueron los vectores más utilizados para los protocolos de terapia génica ocular, estos ensayos de terapia génica para las retinopatías hereditarias han generado resultados prometedores<sup>2,14,15,16,17</sup>.

Se han explorado los mecanismos de la enfermedad y los enfoques de intervención en varios modelos animales de *GUCY2D* -LCA. Inicialmente, el reemplazo de genes se investigó utilizando un vector lentiviral basado en VIH1 en un modelo de pollo de origen natural y mostró reflejos optocinéticos mejorados y comportamiento visual volitivo. Posteriormente, varios grupos han tenido éxito terapéutico en modelos de ratón diseñados. Se ha demostrado que los vectores del virus adenoasociado del serotipo 5 (AAV5) y del virus adenoasociado recombinante del serotipo 2/8 (AAV 2/8) que llevan ADN complementario (ADNc) animal y humano, respectivamente, rescatan la función de la retina y preservan los fotorreceptores de cono. en los modelos de ratón knock-out RetGC1. Además, se ha demostrado que una terapia de reemplazo génica basada en AAV8, que utiliza el mutante de la cápside de tirosina AAV8 (Y733F), restaura la visión útil mediada por conos y bastones en un ratón con doble knock-out RetGC1 / RetGC2. Estos exitosos estudios en animales combinados con la relativa preservación externa de la retina observada en pacientes con *GUCY2D* -LCA han dado como resultado una preparación avanzada para un ensayo de terapia génica en humanos<sup>2</sup>.

Ahora está disponible la primera terapia génica aprobada por la Administración de Alimentos y Medicamentos para *RPE65* -LCA. La terapia de reemplazo de genes para *GUCY2D*-LCA / EOSRD se ha investigado en estudios con animales, con considerable éxito terapéutico informado, utilizando una variedad de vectores que incluyen virus adenoasociado recombinante serotipo 2/8 (AAV2 / 8), virus adenoasociado serotipo 5 (AAV5) y VIH1 vector lentiviral. Aguirre y colaboradores informan de una vía intacta de

la sustancia blanca postgeniculada en sujetos con *GUCY2D* -LCA / EOSRD, lo que proporciona un estímulo adicional para la perspectiva de recuperación de la función visual con la terapia de aumento génico. Jacobson y sus colaboradores investigaron posibles medidas de resultado, como las pruebas de sensibilidad cromática de campo completo y la tomografía de coherencia óptica (OCT), que se utilizan para evaluar la función y la estructura de los fotorreceptores, respectivamente, y concluyeron que cualquier cambio en la disociación entre la estructura y la función después de la intervención puede servir como evidencia de eficacia de la terapia. A pesar de los ensayos de terapias novedosas planeados, destaca la falta de datos longitudinales, particularmente para la OCT y las imágenes de autofluorescencia del fondo de ojo (FAF)<sup>4</sup>.

## **5. Planteamiento del problema**

Las mutaciones causantes de amaurosis congénita de Leber se han caracterizado genéticamente a profundidad, las variantes localizadas en el gen *GUCY2D* son las causantes del 10-20% de este padecimiento, el gen *GUCY2D* codifica para la enzima fotorreceptora guanilato ciclasa 2D que participa en la fototransducción, sin embargo, el estudio de sus características fenotípicas retinianas, estructurales y funcionales es limitado. Consideramos importante describir las características fenotípicas de los pacientes con mutaciones en el gen *GUCY2D* para así en estudios posteriores poder compararlos con otras mutaciones asociadas a amaurosis congénita de Leber y probar su manejo con terapia génica que ha ayudado en el manejo de otras mutaciones causantes de amaurosis congénita de Leber.

## **6. Pregunta de investigación**

¿Cuáles son las características fenotípicas retinianas estructurales y funcionales de los pacientes con diagnóstico de amaurosis congénita de Leber con variantes patogénicas en el gen *GUCY2D*?

## **7. Justificación**

Las distrofias retinianas hereditarias (IRD) son un grupo de trastornos degenerativos clínica y genéticamente heterogéneos, entre ellas se encuentra la amaurosis congénita de Leber (LCA). Uno de los genes asociados con mayor frecuencia a amaurosis congénita de Leber es *GUCY2D*, se han identificado 144 variantes del gen como causa

de común de distrofia de conos autosómica dominante y distrofia de conos-bastones, las mutaciones en este gen como causa de amaurosis congénita de Leber representa alrededor del 10-20% de los casos. Las variantes se han caracterizado genéticamente a profundidad, el gen *GUCY2D* codifica para la enzima fotorreceptora guanilato ciclasa 2D que participa en la fototransducción, sin embargo, el estudio de sus características fenotípicas retinianas, estructurales y funcionales es limitado. Consideramos importante describir las características fenotípicas de los pacientes con mutaciones en el gen *GUCY2D* para así en estudios posteriores poder compararlos con otras mutaciones asociadas a amaurosis congénita de Leber y probar su manejo con terapia génica que ha ayudado en el manejo de otras mutaciones causantes de amaurosis congénita de Leber.

## **8. Hipótesis**

Los pacientes mexicanos con mutación en el gen *GUCY2D* tienen características fenotípicas retinianas estructurales y funcionales similares a las reportadas en los pacientes con mutaciones en otros genes asociados a amaurosis congénita de Leber.

## **9. Objetivo general**

Describir las características fenotípicas retinianas, estructurales y funcionales de un grupo de pacientes mexicanos con diagnóstico de amaurosis congénita de Leber asociada a mutación en el gen *GUCY2D* por medio de exploración oftalmológica, imagen multimodal y electroretinograma.

## **10. Objetivos específicos**

Describir la agudeza visual así como características clínicas de los pacientes con mutación en el gen *GUCY2D*.

Detallar los cambios anatómicos en la retina que presentan los pacientes por medio de tomografía de coherencia óptica y autofluorescencia.

Identificar las alteraciones que presentan estos pacientes en el electroretinograma.

Comparar las características obtenidas de los pacientes con mutación en el gen *GUCY2D* con las características descritas en la literatura de los pacientes con mutaciones diferentes asociadas a amaurosis congénita de Leber.

## 11. Diseño del estudio

Observacional, clínico, retrospectivo, transversal y descriptivo.

## 12. Materiales y métodos

Se recolectarán expedientes de pacientes con diagnóstico clínico de amaurosis congénita de Leber, de ellos se escogió a los que ya cuentan con abordaje por el servicio de genética y tenían como diagnóstico genético alguna mutación en el gen *GUCY2D*.

De los expedientes de pacientes reclutados se evaluarán aquellos que tenían una valoración oftalmológica completa, así como también tomografía de coherencia óptica, imagen de autofluorescencia y electroretinograma.

La valoración oftalmológica se describió por apartados, de igual manera fueron descritos los resultados de los estudios realizados a los pacientes.

Se revisó literatura donde se describían las características clínicas de pacientes con mutaciones diferentes a *GUCY2D* que se encuentran asociados a amaurosis congénita de Leber y se comparó de forma descriptiva con las características observadas en nuestro pacientes.

### Criterios de inclusión

Pacientes con diagnóstico de amaurosis congénita de Leber asociada a mutación en el gen *GUCY2D*.

Pacientes sin otra causa de baja visual asociada.

Pacientes que cuenten con exploración oftalmológica completa descrita en el expediente clínico o fotografía de fondo de ojo al momento del diagnóstico.

Pacientes que tengan tomografía de coherencia óptica macular, imagen de autofluorescencia y electroretinograma.

### Criterios de exclusión

Pacientes que no cuenten tomografía de coherencia óptica macular, imagen de autofluorescencia y electroretinograma.

Pacientes que en su expediente no tengan una valoración oftalmológica completa.

## Procedimientos

Se recolectaron expedientes de pacientes con diagnóstico clínico de amaurosis congénita de Leber en el Instituto de Oftalmología FAP Conde de Valenciana IAP, de ellos se eligieron a los que ya cuentan con abordaje por el servicio de genética y tenían como diagnóstico genético alguna mutación en el gen *GUCY2D* con descripción de la mutación portada.

De los expedientes de pacientes reclutados se evaluaron aquellos que tenían una valoración oftalmológica completa, con datos como la descripción de síntomas percibidos por el paciente, edad de inicio de síntomas, agudeza visual, descripción de las características del fondo de ojo, así como también con tomografía de coherencia óptica, imagen de autofluorescencia y electroretinograma.

Los resultados de los estudios fueron evaluados por un mismo especialista en retina quien describió cada uno de los estudios.

Se revisó literatura donde se describían las características clínicas de pacientes con mutaciones diferentes a *GUCY2D* que se encuentran asociados a amaurosis congénita de Leber y se comparó de forma descriptiva con las características fenotípicas observadas en nuestro pacientes.

### **13. Tamaño de la muestra**

Al ser un protocolo de estudio descriptivo y tratarse de una enfermedad se describieron las características retinianas estructurales y funcionales de cuatro pacientes.

#### 14. Variables del estudio

Variable	Instrumento	Tipo	Escala de medición	Definición operacional
Edad	Interrogatorio	Cuantitativa , discreta	Años	Tiempo que ha vivido una persona contando desde su nacimiento
Sexo	Interrogatorio	Cualitativa, nominal	Femenino o masculino	Condición orgánica que distingue a los hombres de las mujeres.
Agudeza visual mejor corregida	Cartilla de Snellen	Cuantitativa , discreta	LogMAR	Capacidad del sistema visual para discriminar e identificar nítidamente estímulos visuales
Características presentadas	OCT	Cuantitativa , discreta	Milímetros	Grosor de la retina, distribución y regularidad de sus capas
Características presentadas	Imagen autofluorescencia	Cualitativa, discreta	Autofluorescencia	Distribución de cambios hipo o hiperautofluorescentes
Impulso eléctrico de conos y bastones	Electrorretinograma	Cuantitativa , discreta	Microvolt	Valor numérico que describe la respuesta de conos y bastones ante diferentes estímulos luminosos.

## 15. Análisis estadístico

Se realizó un análisis por medio de estadística descriptiva, las variables cualitativas serán descritas y las variables cuantitativas se plasmarán por medio de medidas estadísticas como media y promedio.

## 16. Cronograma de actividades

	jul-22	ago-22	sep-22
Inclusión de pacientes	X		
Revisión de expedientes clínicos		X	
Descripción de estudios de gabinete		X	X
Elaboración de manuscrito para publicación			X

## 17. Resultados

Paciente número uno, edad al diagnóstico 14 años, originaria del Edo Méx, mutación GUCY2D c.389delC; p.Pro130LeufsTer36 (Homocigoto). En el interrogatorio dirigido refirió visión baja desde la infancia, nictalopía, fotosensibilidad severa, fotopsias y nistagmo presente desde los 4 meses de edad.

A la exploración oftalmológica se encontró agudeza visual mejor corregida en ambos ojos 20/400. Su refracción de ojo derecho es +2.50 D esféricas y ojo izquierdo +2.00 D esféricas. A la exploración del fondo de ojo de ambos ojos se observa retina aplicada, papila naranja, exc 0.40, emergencia central de vasos con escasa atenuación arteriolar,

mácula con brillo foveolar, periferia sin lesiones predisponentes ni cambios pigmentarios, una apariencia general sin alteraciones clínicamente (Imagen 1.0).

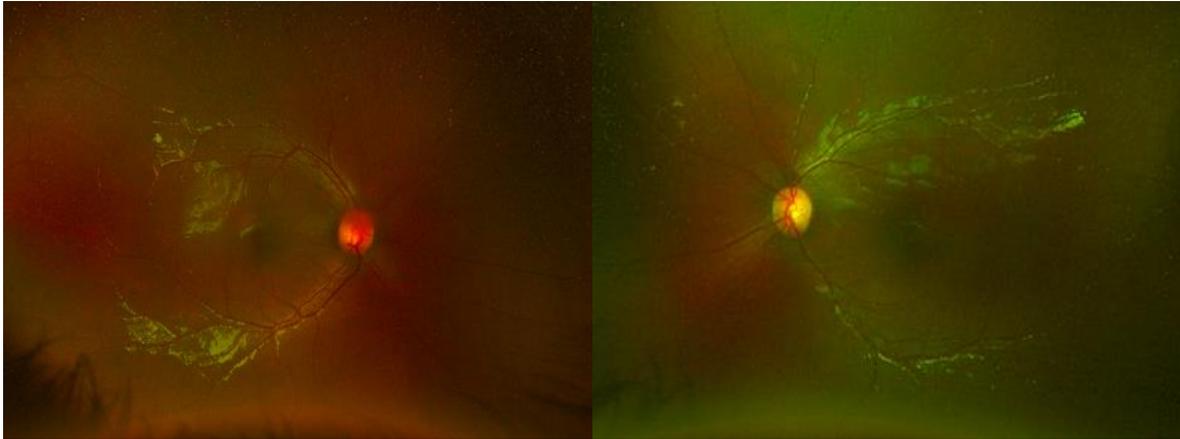


Imagen 1.0

Por medio de autofluorescencia en ojo derecho se encontró disminución de la hipoautofluorescencia habitual entorno a la región foveal y presencia de punto de hiperautofluorescencia en el centro foveal, y en ojo izquierdo pérdida sutil de la hipoautofluorescencia habitual entorno a la región foveal de predominio temporal, y punto de hiperautofluorescencia en el centro foveal (Imagen 1.1).

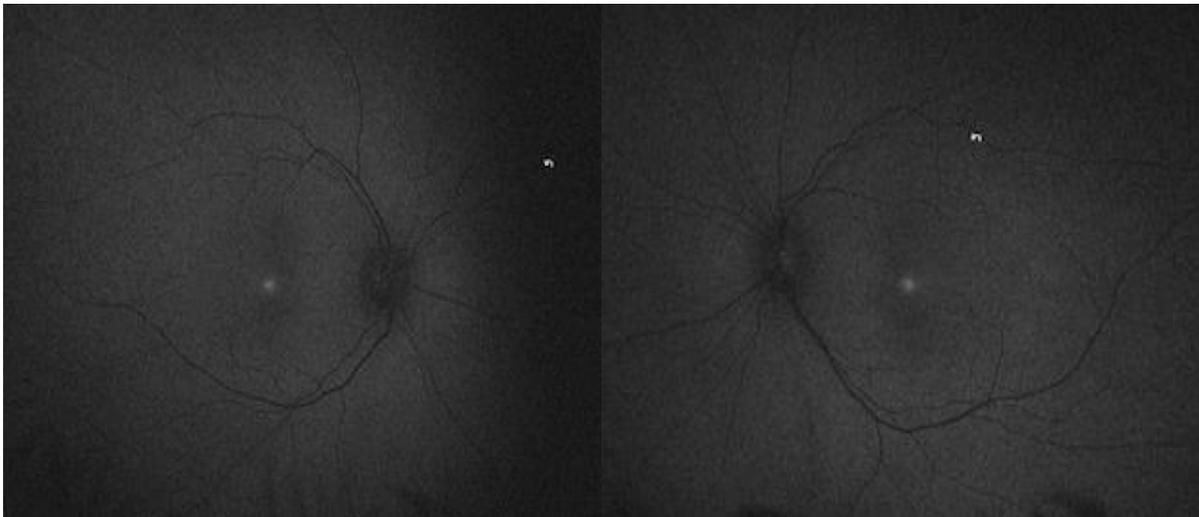


Imagen 1.1

Por medio de tomografía de coherencia óptica de dominio espectral en el ojo derecho se documentó interfase vítreoretiniana sin alteraciones, depresión foveal conservada, adecuada diferenciación de capas internas y externas de la retina, presencia de puntos hiperreflécticos a nivel de capa nuclear externa, disrupción focal de la membrana

limitante externa y de la banda elipsoides a nivel subfoveal, epitelio pigmentario de la retina sin alteraciones y en ojo izquierdo interfase vítreorretiniana sin alteraciones, depresión fóveal conservada, adecuada diferenciación de capas internas y externas de la retina, epitelio pigmentario de la retina sin alteraciones (Imagen 1.2).

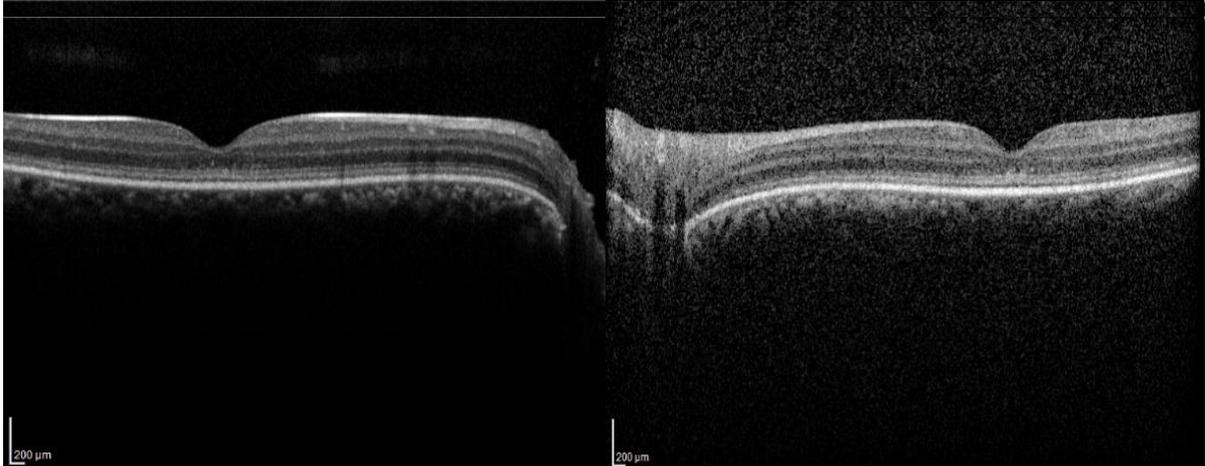


Imagen 1.2

Con el objetivo de demostrar los cambios funcionales se solicitó un electroretinograma donde se documentaron las respuestas a las pruebas escotópicas disminuidas sin llegar a ser planas de predominio en la onda a, los registros en las pruebas fotópicas y el *flicker* resultaron planos de manera similar en ambos ojos (Imagen 1.3)

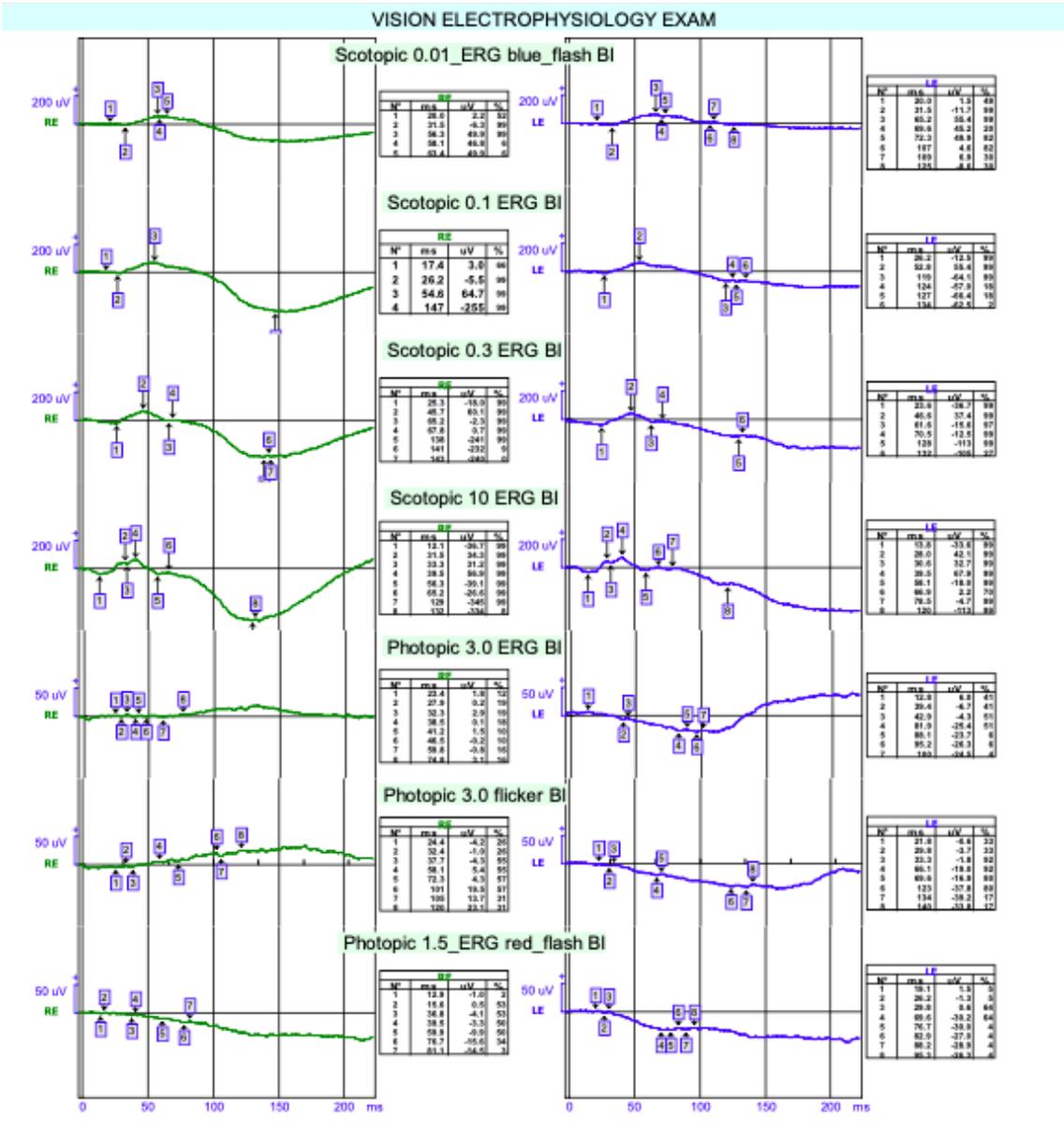


Imagen 1.3

Paciente número dos, edad al diagnóstico 54 años, originaria de Yucatán, mutación GUCY2D Exón 13 c.2512C>T p.Arg838Cys (Heterocigota). Al interrogatorio dirigido menciona visión baja desde los 6 años de edad, nictalopía desde los 6 años de edad, fotosensibilidad moderada desde los 20 años de edad, fopsias desde la infancia y escotoma desde los 11 años de edad.

A la exploración oftalmológica encontramos capacidad visual de 20/400 en ambos ojos. Refracción de ojo derecho -2.50=-2.25x90, y de ojo izquierdo -2.00=-1.75x 120. En el fondo de ojo de ambos ojos retina aplicada, fondo corioideo, papila pálida 1+, exc 0.35, emergencia central de vasos con atenuación arteriolar, mácula cambios

hiperpigmentados de 5 áreas de disco que abarca zona fóveal, periferia sin lesiones predisponentes ni cambios pigmentarios (Imagen 2.0).

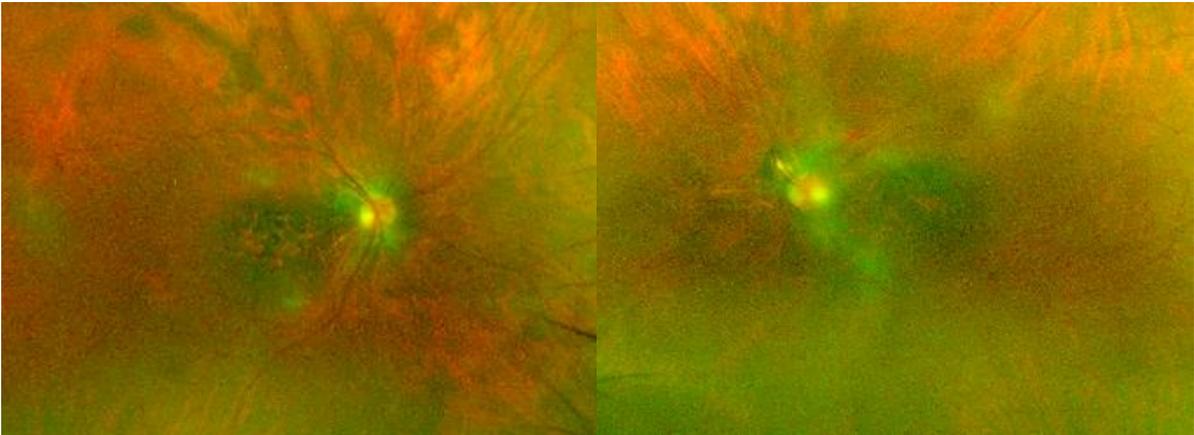


Imagen 2.0

Por medio de autofluorescencia se observó en ojo derecho hipoautofluorescencia en mácula de un área de disco que abarca región fóveal, rodeada por halo hiperautofluorescente, y en ojo izquierdo hipoautofluorescencia peripapilar temporal y nasal de tres áreas de disco que abarcan región fóveal, rodeado por halo hiperautofluorescencia (Imagen 2.1).

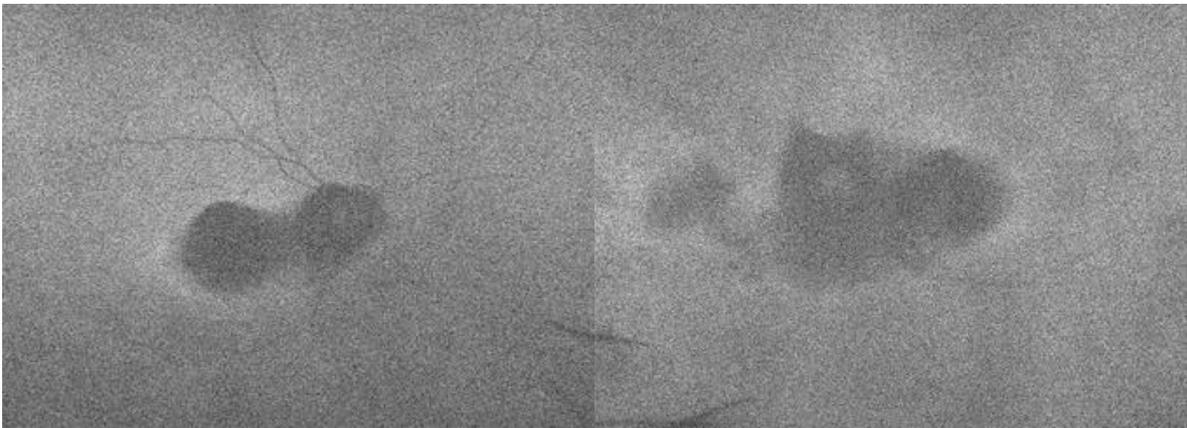


Imagen 2.1

La tomografía de coherencia óptica de dominio espectral de ojo derecho demostró interfase vítreoretiniana sin alteraciones, pérdida de la estructura de capas internas y externas en región foveal, disrupción e irregularidad del epitelio pigmentario de la retina y en ojo izquierdo interfase vítreoretiniana sin alteraciones, pérdida de la estructura de capas internas y externas en región foveal, disrupción del epitelio pigmentario de la retina (Imagen 2.2)

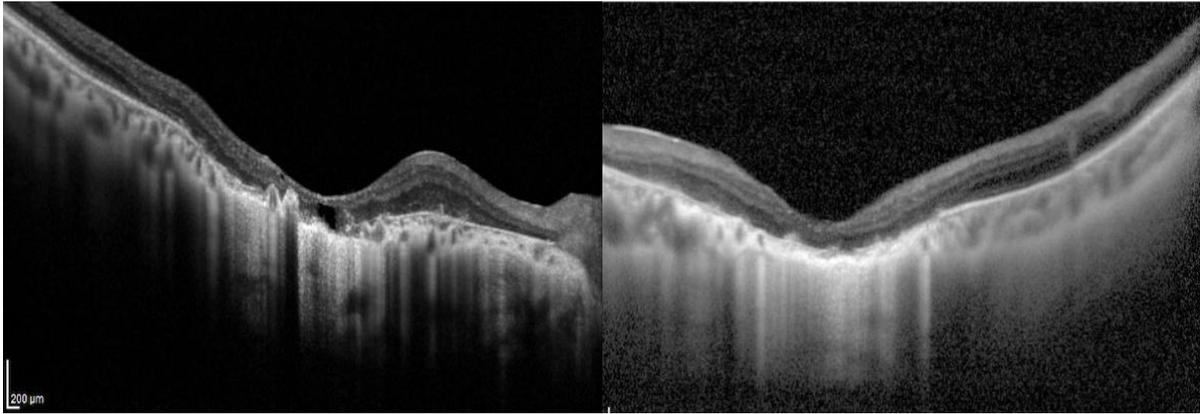


Imagen 2.2

En el electroretinograma las respuestas a las pruebas escotópicas tanto la onda a como la onda b estaban disminuidas en amplitud sin llegar a ser planas, los registros en las pruebas fotópicas y el *flicker* resultaron de igual manera disminuidos en amplitud pero presentes en ambos ojos (Imagen 2.3).

VISION ELECTROPHYSIOLOGY EXAM

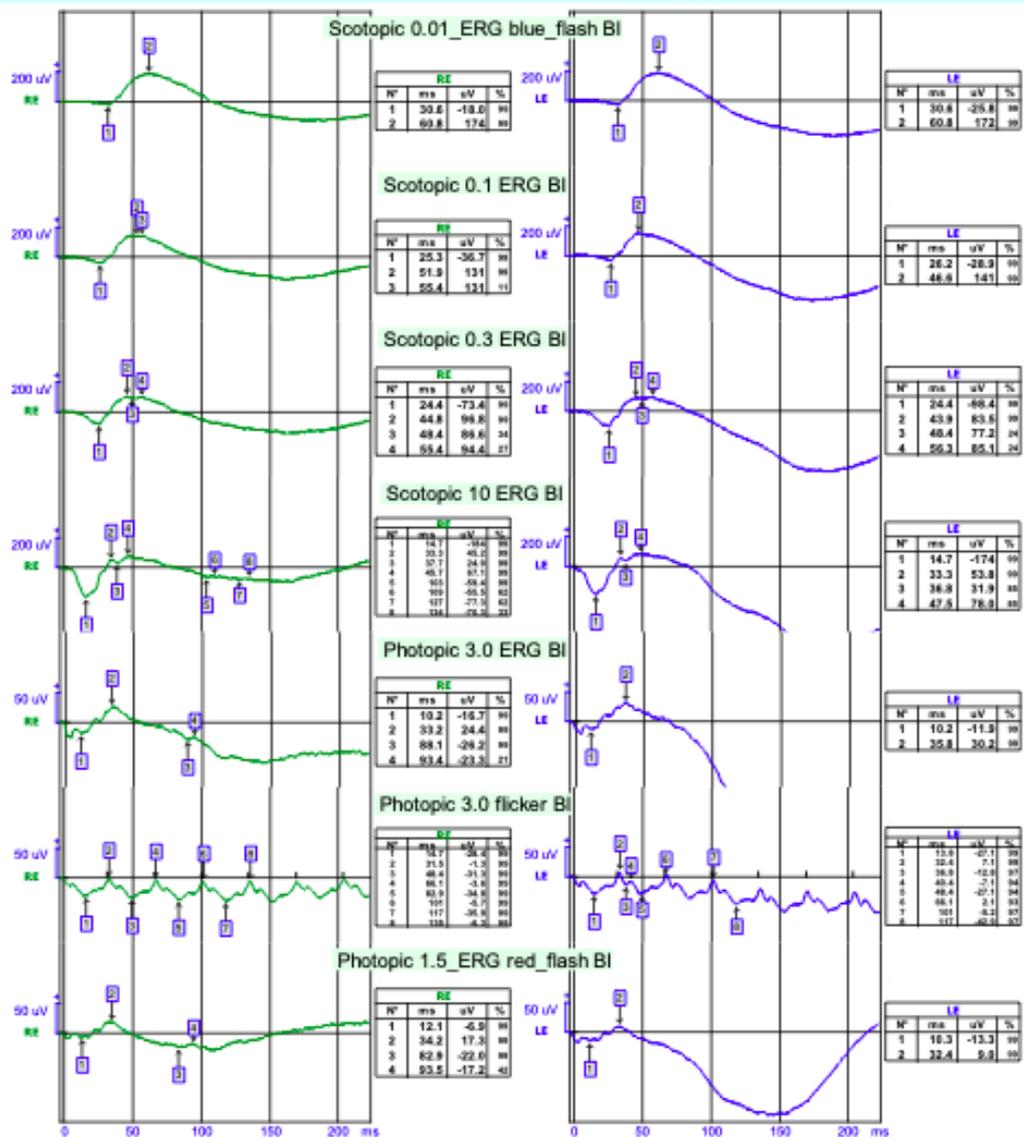


Imagen 2.3

Paciente número tres, edad al diagnóstico 9 años, originario de Puebla, mutación GUCY2D Exón 13 c.2512C>T p.Arg838Cys (Heterocigota). Al interrogatorio dirigido menciona visión baja desde los 7 años, discromatopsia y fotopsias desde los 8 años de edad.

A la exploración oftalmológica la agudeza visual mejor corregida en ojo derecho 20/30 y ojo izquierdo 20/20. Refracción ojo derecho  $-0.25 = -0.75 \times 0$  y ojo izquierdo  $-0.25 = -0.75 \times 165$ . En la valoración del polo posterior la retina aplicada, papila naranja, exc 0.30, emergencia central de vasos con escasa atenuación arteriolar, mácula con brillo foveolar, periferia sin lesiones predisponentes ni cambios pigmentarios (Imagen 3.0).

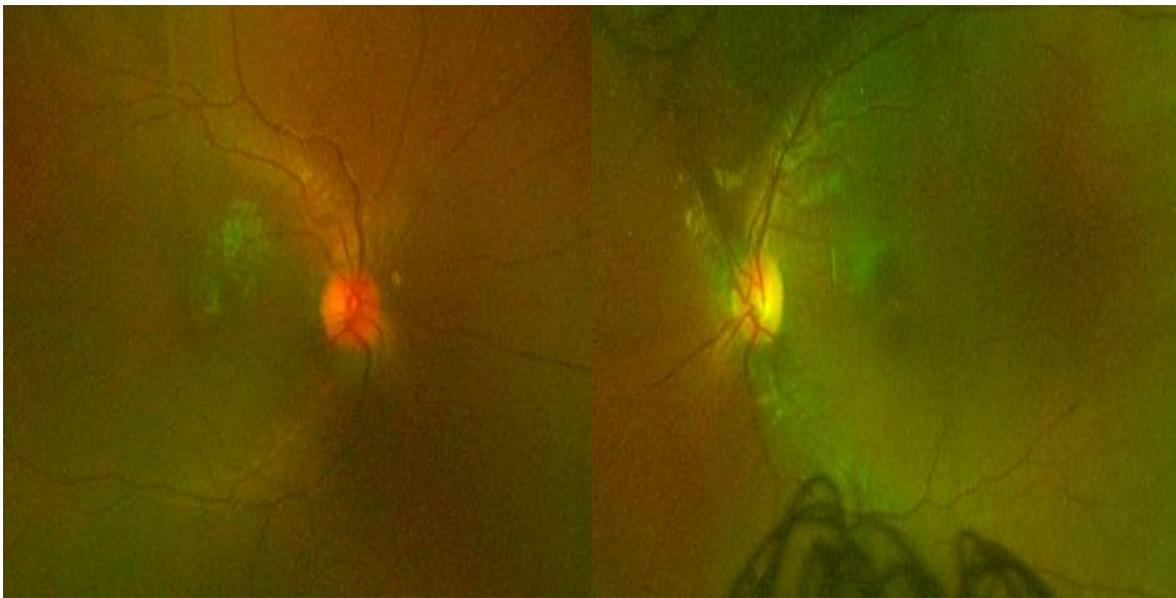


Imagen 3.0

En la autofluorescencia de ambos ojos se aprecia halo hiperautofluorescente perifoveal (Imagen 3.1)

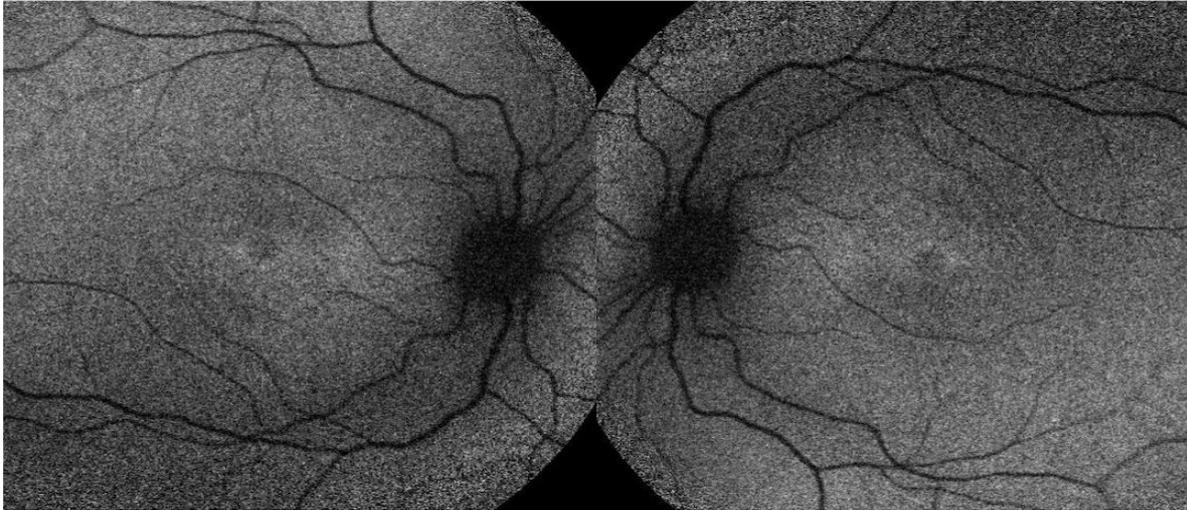


Imagen 3.1

La tomografía de coherencia óptica de dominio espectral del ojo derecho mostró interfase vítreoretiniana sin alteraciones, disminución de la depresión foveal, escasos puntos hiperreflectivos en la capa de células ganglionares, irregularidad en membrana limitante externa y elipsoides, aumento de la reflectividad de la zona de interdigitación en la región subfoveal, epitelio pigmentario de la retina conservado, en el ojo izquierdo se encontró interfase vítreoretiniana sin alteraciones, cambios hiperreflécticos en capa de fibras nerviosas, capas internas de la retina sin alteraciones, depósitos hiperreflécticos a lo largo de zona de interdigitación con predominio subfoveal, epitelio pigmentario de la retina sin alteraciones (Imagen 3.2)

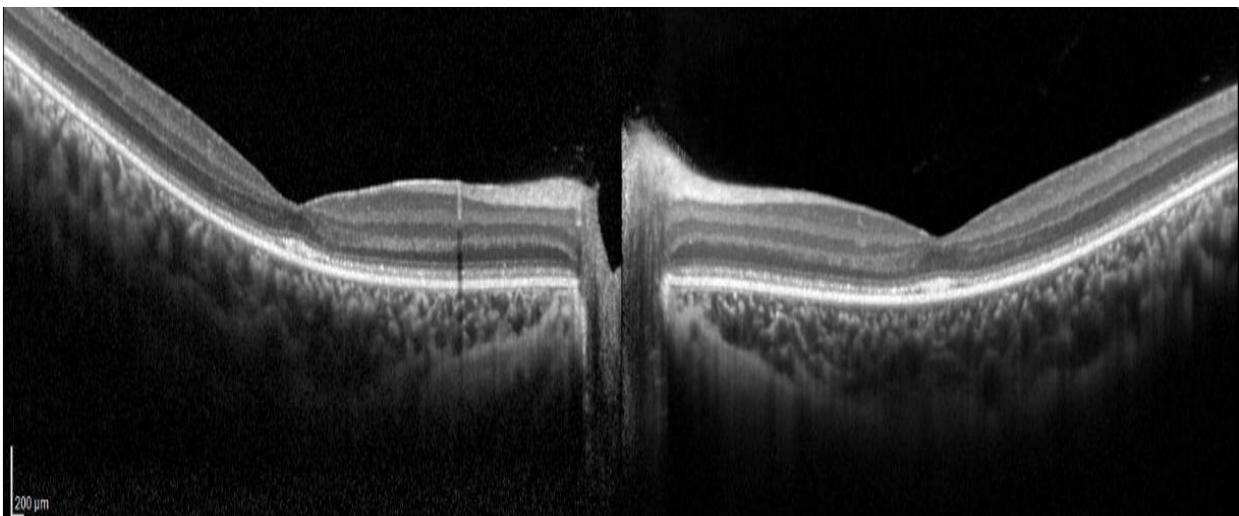


Imagen 3.2

Con la finalidad de observar los cambios funcionales se tomo un electroretinograma donde en ambos ojos las respuestas a las pruebas escotópicas y fotópicas estuvieron disminuidas en amplitud sin llegar a ser planas, la prueba de la *flicker* resultó conservada (Imagen 3.3).

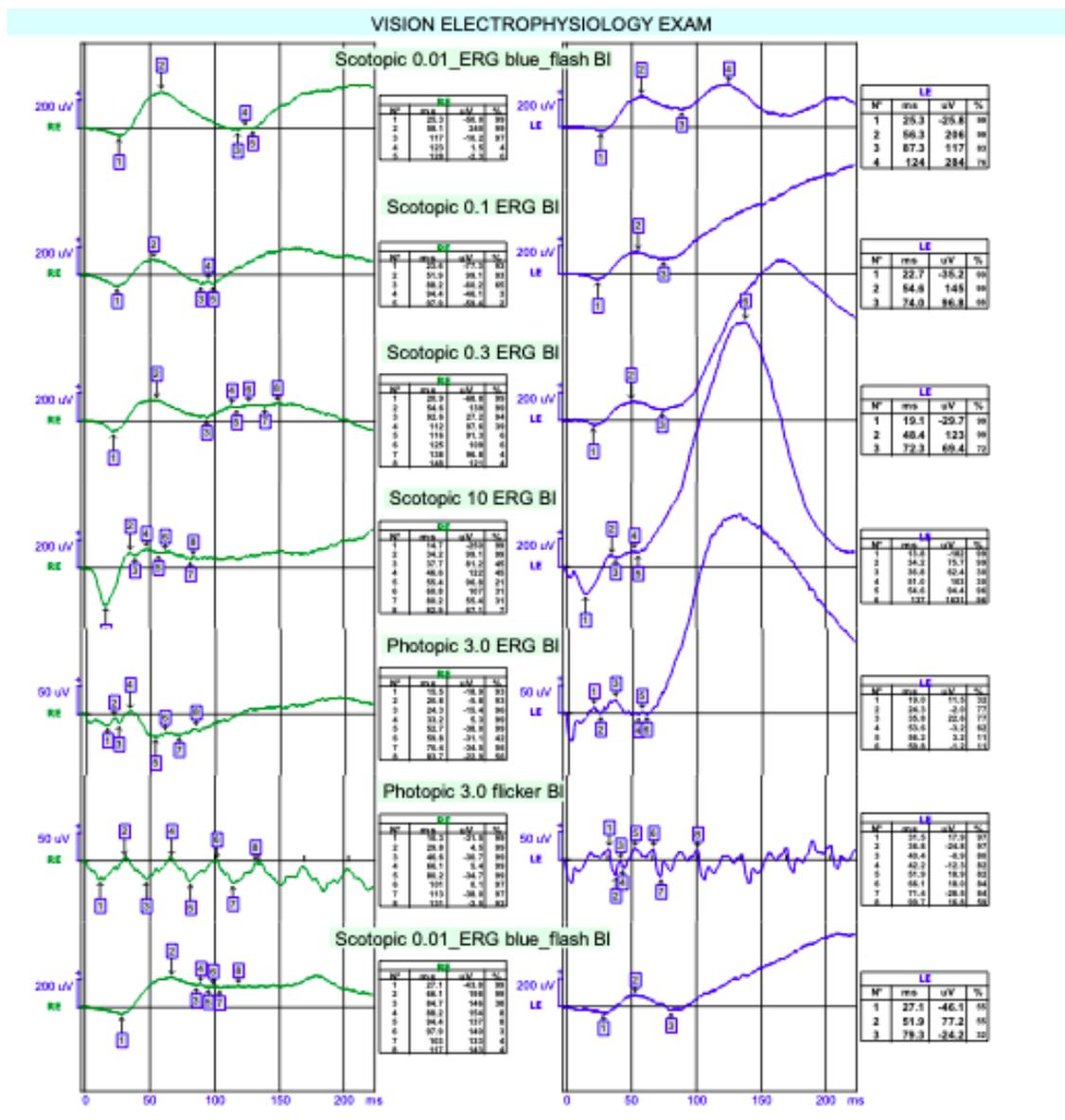


Imagen 3.3

Paciente número cuatro, edad de diagnóstico 29 años, originaria de Puebla , mutación GUCY2D Exón 13 c.2512C>T p.Arg838Cys (Heterocigota). Al interrogatorio dirigido refiere visión baja desde los 13 años, discromatopsia desde los 20 años de edad, fotosensibilidad desde los 23 años moderada, escotoma desde los 24 años y fopsias desde los 27 años. A la exploración oftalmológica cuenta con capacidad visual ojo derecho 20/80 y ojo izquierdo 20/100. Su refracción ojo derecho -1.00=-1.75x175 y ojo

izquierdo -1.25=-1.50x5. En el fono de ojo del ojo derecho retina aplicada, papila naranja, exc 0.20, emergencia central de vasos, mácula con cambios hiperpigmentados de un área de disco sobre fóvea, ojo izquierdo retina aplicada, papila naranja, exc 0.20, emergencia central de vasos con estrechamiento arteriolar, mácula con brillo foveolar, periferia sin lesiones ni cambios pigmentarios (Imagen 4.0)

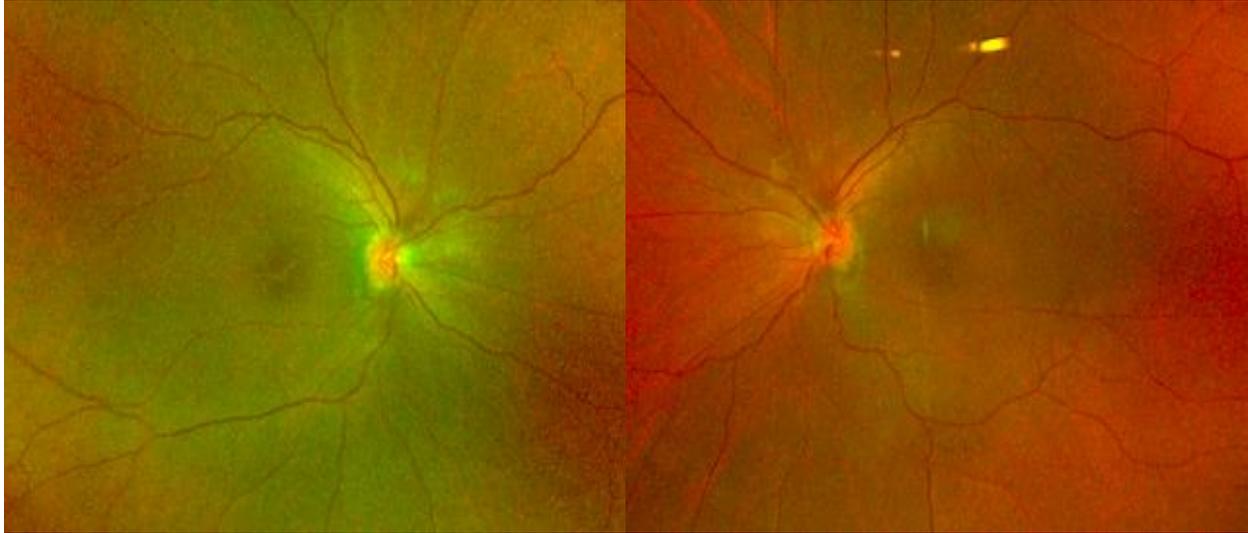


Imagen 4.0

En la imagen de autofluorescencia ambos ojos presentó escasa hiperautofluorescencia en región foveal (Imagen 4.1).

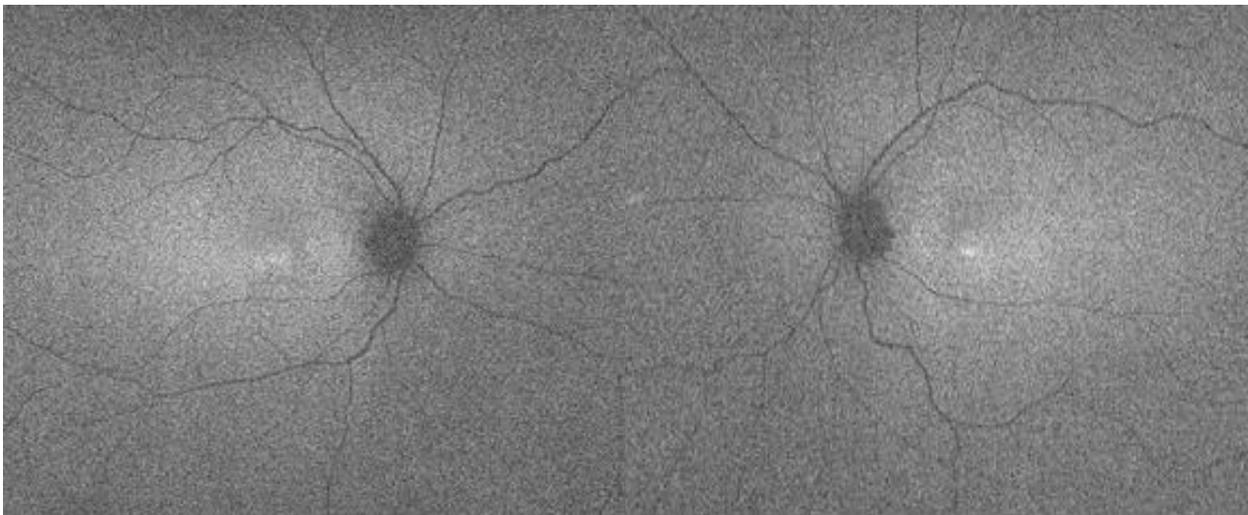


Imagen 4.1

La tomografía de coherencia óptica de dominio espectral ojo derecho interfase vítreoretiniana sin alteraciones, capas internas de la retina conservadas, irregularidad en membrana limitante externa en región temporal a la fóvea, pérdida de la línea de interdigitación en región foveal, resto de capas sin alteraciones, ojo izquierdo interfase

vítreoretiniana sin alteraciones, capas internas de la retina conservadas, irregularidad en membrana limitante externa en región temporal a la fovea, pérdida de la línea de interdigitación en región foveal, resto de capas sin alteraciones (Imagen 4.2).

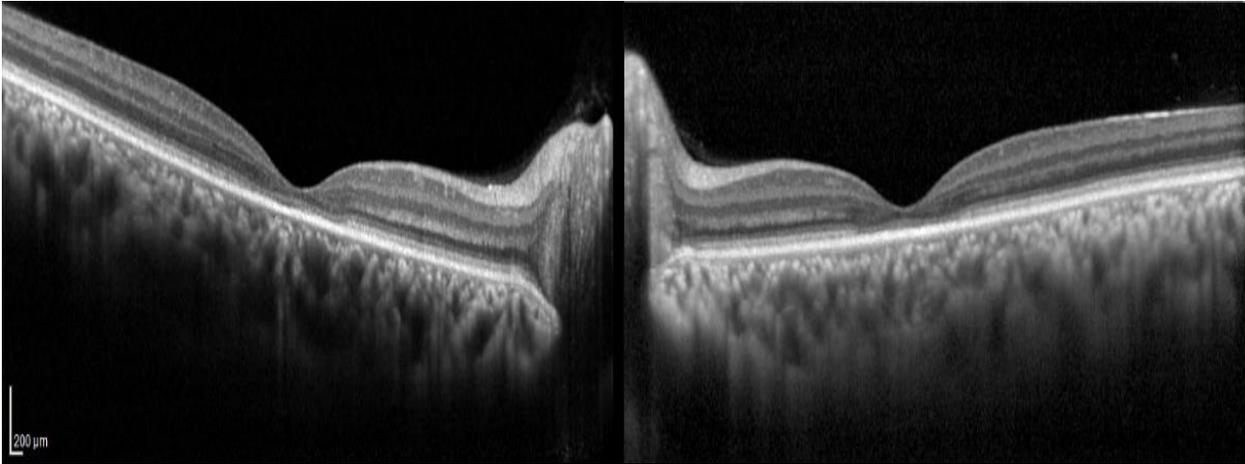


Imagen 4.2

En el electroretinograma las respuestas a las pruebas escotópicas conservadas tanto onda a como onda b, los registros en las pruebas fotópicas y el *flicker* resultaron planos de manera similar en ambos ojos (Imagen 4.3).

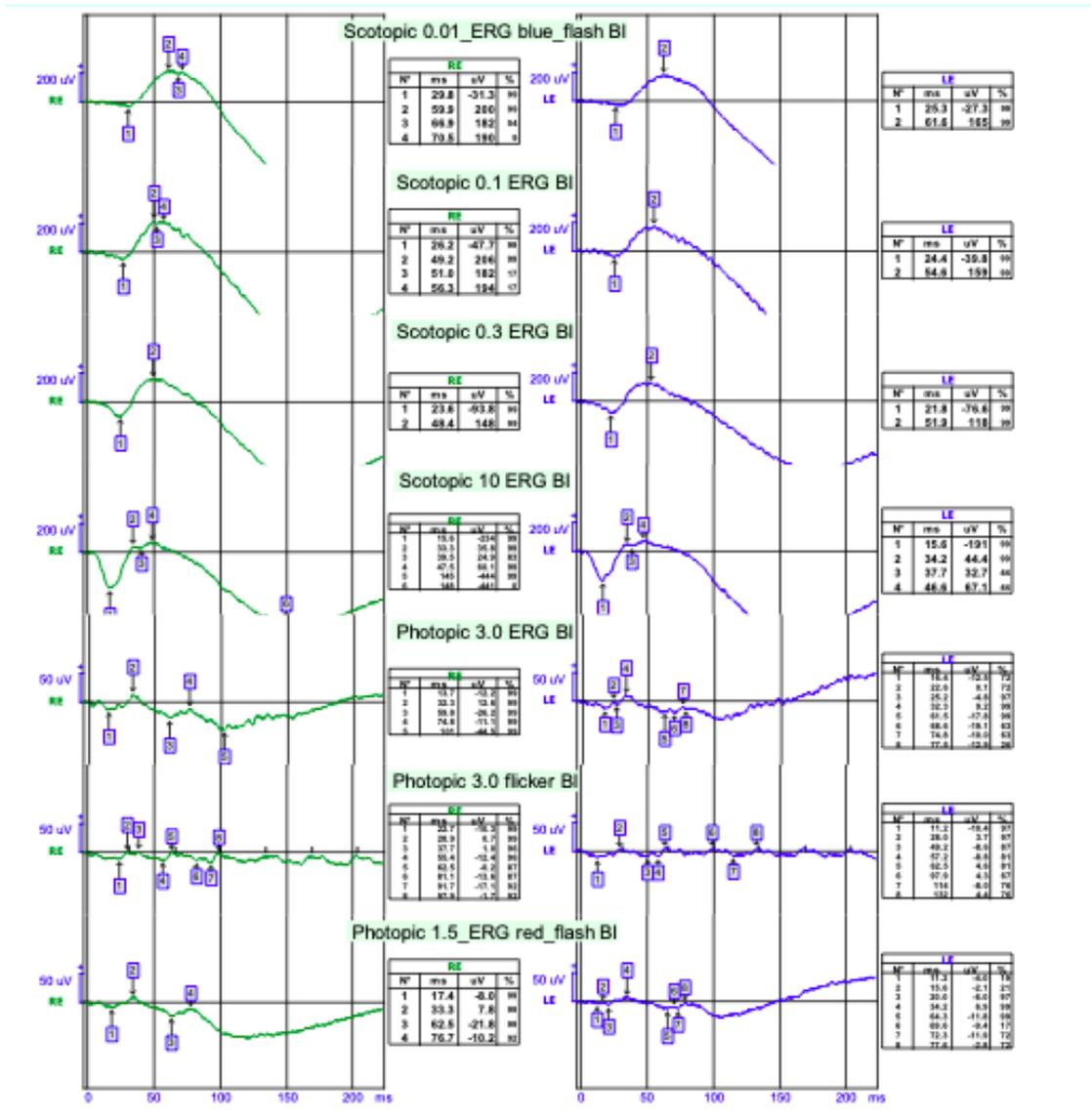


Imagen 4.3

## 18. Discusión

Nuestros pacientes en el interrogatorio dirigido comentaron que iniciaron con síntomas desde la infancia, desde los 6 a los 13 años de edad, en dos investigaciones que fueron elaboradas por Boye y Bouzia mencionan que los pacientes con mutación en el gen *GUCY2D* presentan baja agudeza visual desde edades tan tempranas como el primer año de vida, a diferencia de Viswarubhiny y colaboradores que refiere que los pacientes con mutación en el gen *RPE65*, tienen mejor agudeza visual en la primera década de la vida pero se va deteriorando hasta décadas posteriores.<sup>12, 4, 6</sup> Otros síntomas que refirieron tener nuestros pacientes fueron: cuatro pacientes refirieron fopsias, tres pacientes fotosensibilidad, la mitad de ellos nictalopía, dos pacientes escotoma y sólo un paciente refirió nistagmo. Los síntomas que más reportan en la literatura en pacientes

que tienen esta misma mutación es nistagmo más frecuentemente, fotosensibilidad y nictalopía en ese orden.<sup>13, 12, 2, 4</sup>

En la exploración oftalmológica la capacidad visual que se encontró en los pacientes evaluados en este estudio fue de ojo derecho 20/30 y ojo izquierdo 20/20 en el paciente de menor edad (9 años), un paciente tuvo en ojo derecho 20/80 y en ojo izquierdo 20/100, dos pacientes presentaron 20/400 bilateral, estos últimos pacientes tenían edades de 14 y 54 años, por lo que no fue un factor que pudieramos relacionar con su capacidad visual. Jacobson y colaboradores en 2021 describe que sus pacientes con mutación en el gen *GUCY2D* tenían capacidad visual de 20/80 a percepción de luz, Bouzia y colaboradores mencionan que pacientes con la misma mutación en un 70% tenían capacidad visual de movimiento de manos en el 70%, pero con un rango de distribución desde 20/50 a no percepción de luz.<sup>13, 4</sup>

Los defectos refractivos observados en tres de los pacientes estudiados fue miopía y astigmatismo, sólo un paciente presentó hipermetropía sin llegar ninguno a presentar graduaciones significativas o altas. Esto difiere de la publicación realizada por Bouzia en 2020 donde el 70% de los pacientes con la misma mutación presentaron hipermetropía con refracciones de más de +6.50 dioptrías en el 50% de los pacientes.<sup>4</sup>

El fondo de ojo de dos pacientes presentados en este estudio sólo tenía escaso estrechamiento arteriolar, sólo dos de ellos presentaron cambios pigmentarios en la mácula, siendo más marcados en la paciente de 54 años de edad con cambios hiperpigmentados centrales que abarcaban zona foveal, en el restante de los pacientes no había cambios pigmentarios en la fundoscopia. Jacobson y colaboradores mencionan que sus pacientes con mutación en este mismo gen no tenían alteraciones en el fondo de ojo, de manera similar a los pacientes uno y tres del presente estudio. Viswarubhiny y colaboradores en 2021 estudiaron pacientes con mutación en el gen *RPE65* también escriben que no presentaron cambios clínicos en la retina a diferencia de algunos pacientes que reportaron presentaban un fondo marmoreo que se relacionaba con mutación en el gen *CEP290*.<sup>13, 6</sup>

En la autofluorescencia tres pacientes presentaron hiperautofluorescencia en la región foveal y sólo un paciente tuvo cambios hipoautofluorescentes en la región foveal de un área de disco con halo hiperautofluorescentes, este último paciente es el paciente número dos, el cual tenía una edad más avanzada. Jacobson reportó que no existían cambios en sus pacientes con mutaciones en el gen *GUCY2D* cuando se encontraban

en las primeras tres décadas de la vida. Bouzia relata que sólo uno de los once pacientes que estudió con mutación en el gen *GUCY2D* tenía autofluorescencia normal, dos pacientes tenía hiperautofluorescencia foveal, similar a nuestros pacientes y dos pacientes tenían un anillo perimacular de hiperautofluorescencia, en la periferia y en el ecuador no existieron alteraciones. Kumaran y colaboradores reportaron que la *deficiencia de RPE65* si estaba asociada con autofluorescencia reducida o ausente en las imágenes de autofluorescencia del fondo de ojo, lo que sugiere niveles bajos o ausentes de lipofuscina en el RPE, solamente similar a la paciente con mayor edad de nuestro estudio.<sup>13, 12, 2</sup>

La tomografía de coherencia óptica macular de dominio espectral en el paciente número uno presentó puntos hiperreflécticos en la capa nuclear externa, disrupción focal de la membrana limitante externa y de la banda elipsoides a nivel subfoveal, no se observaron alteraciones en el epitelio pigmentario de la retina. En nuestra paciente de 54 años se encontró pérdida de la estructura de las capas internas y externas en la región foveal, así como disrupción e irregularidad del epitelio pigmentario de la retina en ambos ojos. En nuestro paciente más joven o pacinete número tres, con mejor visión, su tomografía mostró en el ojo derecho disminución de la depresión foveal, escasos puntos hiperreflécticos en la capa de células ganglionares, irregularidad de la membrana limitante eterna y de la capa elipsoides, aumento de la reflectividad de la zona de interdigitación en la región región subfoveal, no había alteraciones en el epitelio pigmentario de la retina, en el ojo izquierdo cambios hiperreflécticos en capa de fibras nerviosas, capas internas de la retina sin alteraciones, depósitos hiperreflécticos a lo largo de zona de interdigitación con predominio subfoveal, epitelio pigmentario de la retina sin alteraciones, por esta cantidad de alteraciones a nivel de la retina externa es que no consideramos exista una asociación entre los cambios estructurales encontrados en este paciente y su agudeza visual. En nuestro último paciente en la tomografía de coherencia óptica de dominio espectral de ambos ojos se encontraron capas internas de la retina conservadas, irregularidad en membrana limitante externa en región temporal a la fóvea, pérdida de la línea de interdigitación en región foveal, sin cambios en el epitelio pigmentario de la retina. Kumaran y sus colegas en 2017 al estudiar pacientes con mutación en el gen *GUCY2D* encontró en sus tomografías hallazgos similares a los de nosotros con capas externas relativamente conservadas, anomalías del segmento externo del cono en la región foveal y pérdida del cono foveal.<sup>2</sup> Jacobson y colaboradores reportaron en pacientes con mutación en el mismo gen la capa nuclear externa más delgada, asociado a depósitos en el epitelio pigmentario de la retina en el área parafoveal encontrados también en nuestro paciente número dos.<sup>13</sup> Bouzia y

colaboradores en 2020 al estudiar pacientes con mutación en el gen *GUCY2D* identificaron cuatro grados diferentes de integridad de la zona elipsoide (EZ): EZ continua/intacta en seis pacientes, EZ interrumpida focalmente en dos pacientes, EZ focalmente interrumpido con cambios de EPR en dos pacientes y con interrupción difusa de EZ con cambios en el epitelio pigmentario de la retina en un paciente, siendo estos cambios como la disrupción de la línea elipsoides y la irregularidad con depósitos hiperreflécticos en el EPR también observados en tres de nuestros pacientes.<sup>4</sup> Viswarubhiny et al 2021 menciona que los pacientes con mutación el gen *RPE65* presentan las capas externas de la retina en la zona macular sin alteraciones estructurales en la tomografía, a diferencia de lo observado en la mutación *CRX* autosómica dominante, que en informes anteriores se reporta tomografía con atrofia y adelgazamiento macular, sin señal notable de la línea de interdigitación, laminación y pérdida completa de la capa retiniana externa.<sup>6</sup> De manera similar Kumaran y colaboradores describen a pacientes con mutaciones en *RPE65* han demostrado por tomografía un grosor retiniano relativamente normal en algunos pacientes; con más frecuencia un área macular central de retina relativamente conservada con un anillo de adelgazamiento o pérdida de retina más generalizada. En ambas mutaciones tanto en el gen *GUCY2D* como en *RPE65* no parece haber una relación clara entre la edad y el adelgazamiento o cambios presentados en la tomografía. Esta variabilidad fenotípica independientemente de la edad, y que varía tanto entre familias como dentro de ellas, es típica de la marcada heterogeneidad que caracteriza a la enfermedad.<sup>2</sup> Aboshiha al describir las características tomográficas de los pacientes con mutación en el gen *AIP1* en el 69% de los pacientes no se observaban capas de fotorreceptores en la mácula. Sin embargo, 23% demostraron una estructura retiniana externa con preservación relativa de la capa elipsoide del segmento interno y la capa nuclear externa en la fóvea. Es de destacar que los tres pacientes con evidencia clara de una capa elipsoide del segmento interno foveal eran los más jóvenes de la cohorte, cada uno con  $\leq 1$  año de edad, en el caso del gen *AIP1* en este estudio si se muestra una correlación con los cambios tomográficos relacionados con la edad.<sup>18</sup>

En el electroretinograma el paciente uno demostró respuestas a las pruebas escotópicas disminuidas sin llegar a ser planas con predominio en la onda a, los registros en las pruebas fotópicas y el flicker resultaron planos en ambos ojos, en el paciente número dos las respuestas a las pruebas escotópicas estaban disminuidas sin llegar a ser planas de igual forma onda a como onda b, las respuestas fotópicas estaban disminuidas en amplitud pero se encontraban presentes de manera bilateral, en el paciente número tres las respuestas a las pruebas escotópicas y fotópicas estuvieron

disminuidas en amplitud sin llegar a ser planas, la prueba de *flicker* resultó conservada, por último en el paciente número cuatro presentó respuestas a las pruebas escotópicas conservadas tanto onda a como onda b, los registros en las pruebas fotópicas y el *flicker* resultaron planos de manera similar en ambos ojos, como podemos observar mostraron patrones de comportamiento diferentes en el electroretinograma por lo que no podemos asumir una pérdida inicial de funcionalidad en conos o bastones en este grupo de pacientes. Kumaran y colaboradores en 2017 cuando estudiaron una población de pacientes con mutación en *GUCY2D* describió que el electroretinograma a menudo conserva función de bastones sustancial, algunos tienen una función de conos detectable pero reducida, la mayoría de los pacientes carecen de visión mediada por conos, estos patrones son diversos y muy similares a los patrones que muestran nuestros pacientes.<sup>2</sup>

Xu y sus colegas informaron una mutación nula homocigota en *ALMS1* en seis casos de LCA con degeneración retiniana de inicio temprano, donde el electroretinograma fue indetectable.<sup>19</sup> Kumaran y colaboradores reportan la amaurosis congénita de Leber asociada a *RPE65* como una distrofia retiniana grave progresiva con una disfunción temprana profunda de los fotorreceptores de bastón seguida de una degeneración progresiva de los fotorreceptores de cono, en nuestros pacientes no se observa este patrón.<sup>9</sup> Bouzia y colaboradores describen pacientes con mutación en el mismo gen que el presente estudio refieren de manera cuantitativa sus electroretinogramas de una manera más precisa pero con patrones diversos, sin embargo diferentes a nuestros pacientes porque en la mayoría de los casos fue indetectable la respuesta fotópica, sus resultados fueron reportados de la siguiente manera: en el electroretinograma de flash tenue adaptados a la oscuridad fueron indetectables en cinco pacientes y severamente subnormales en un paciente. Las ondas a y b del ERG de destello fuerte se redujeron en aproximadamente un 80%-95% en aquellos con una respuesta detectable; las ondas b estaban severamente reducidas y tenían un pico de tiempo anormalmente corto en los cinco casos. Los ERG adaptados a la luz fueron indetectables en todos los casos excepto en un, con un ERG de parpadeo LA residual de 30 Hz en un ojo.<sup>4</sup>

## **19. Conclusiones**

Los pacientes con mutación en el gen *GUCY2D* presentan baja agudeza visual desde la primera década de la vida, otros síntomas que presentan son fopsias, fotosensibilidad, nictalopía y nistagmo. La capacidad visual de los pacientes en su mayoría es escasa muy frecuentemente encontrándose en rangos de 20/400 a movimiento de manos. En la exploración clínica del fondo de ojo en su mayoría no hay

cambios clínicamente significativos. La imagen de autofluorescencia se puede no observar cambios, pueden tener hiperautofluorescencia foveal o en casos muy avanzados se puede obtener una imagen hipoautofluorescente central con halo hipoautofluorescente. La tomografía de coherencia óptica macular se puede mostrar leves cambios en las capas externas de la retina, específicamente irregularidad o disrupción en la capa elipsoide y depósitos hiperreflécticos en el epitelio pigmentario de la retina. El electroretinograma demuestra diferentes patrones tanto en prueba escotópica como fotópica, sin embargo en su mayoría se encuentran disminuidas las respuestas pero no abolidas o planas. Se necesitaría una muestra mayor para poder valorar si existe alguna ametropía asociada con mayor frecuencia y generalizar o extrapolar el estudio para una población más grande.

## **20. Limitaciones del estudio**

Al ser un estudio transversal no se continuó el seguimiento clínico de los pacientes y se desconoce evolución de la patología. Se interrogaron directamente diferentes síntomas a los pacientes por lo cual se pudiera estar infiriendo síntomas que el paciente por sí mismo no había detectado. Al ser una corte pequeña de estudio, se requiere una muestra más grande con diferentes distribuciones en género y poblaciones para caracterizar de mejor manera el fenotipo de la mutación en el gen *GUCY2D*.

## **21. Aspectos éticos**

Todos los procedimientos fueron aprobados por el Comité de Ética en Investigación (CONBIOÉTICA-09-CEI-023-20160830). Los experimentos se realizaron de acuerdo con la ley general de salud en materia de investigación para la salud.

Este protocolo conlleva un riesgo mínimo. El estudio y protocolo se ajusta a los principios de la declaración de Helsinki, al ser un estudio descriptivo, donde se revisarán únicamente expedientes y estudios de gabinete ya realizados al paciente.

## **22. Aspectos de bioseguridad**

Todos los procedimientos fueron aprobados por el Comité de Bioseguridad (17 CB 09 015 007). Al ser este estudio retrospectivo en el que sólo se revisarán expedientes clínicos y estudios de gabinete previamente tomados, no se requerirá evaluación en materia de bioseguridad.

### **23. Financiamiento de la investigación**

No requeridos para protocolo actual.

### **24. Declaración de conflicto de intereses de los investigadores**

No existe conflicto de interés por parte de los autores.

### **25. Bibliografía**

1. Ziccardi L, Cordeddu V, Gaddini L, Matteucci A, Parravano M, Malchiodi-Albedi F, Varano, M. Gene therapy in retinal dystrophies. *Int J Mol Sci* 2019. 14;20(22):5722. doi: 10.3390/ijms20225722.
2. Kumaran N, Moore AT, Weleber RG, Michaelides M. Leber congenital amaurosis/early-onset severe retinal dystrophy: clinical features, molecular genetics and therapeutic interventions. *Br J Ophthalmol* 2017. 101 (9): 1147-1154. doi: 10.1136/bjophthalmol-2016-309975.
3. Chiu W, Lin T, Chang Y, Mulyadi H, Lin S, Ma C, et al. An Update on Gene Therapy for Inherited Retinal Dystrophy: Experience in Leber Congenital Amaurosis Clinical Trials. *Int J Mol Sci* 2021. 22(9): 4534. doi: 10.3390/ijms22094534.
4. Bouzia Z, Georgiou M, Hull S, Robson AG, Fujinami K, Rotsos T, et al. GUCY2D-Associated Leber Congenital Amaurosis: A retrospective natural history study in preparation for trials of novel therapies. *AM Journal of ophthalmology* 2020 (210): 59-70. doi: 10.1016/j.ajo.2019.10.019.
5. Xu K, Xie Y, Sun T, Zhang X, Chen C, Yang L. Genetics and clinical findings in a Chinese cohort with leber congenital amaurosis and early onset severe retinal dystrophy. *Br J Ophthalmol* 2020. 104 (7): 932-937. doi: 10.1136/bjophthalmol-2019-314281.
6. Viswarubhiny S, Anjanamurthy R, Vanniarajan A, Bharanidharan D, Perulmalsamy V, Sundaresan P. Clinical exome sequencing facilitates the understanding of genetic heterogeneity in Leber congenital amaurosis patients with variable phenotype in southern India. *Eye Vis (Lond)* 2021. 8(1):20. doi: 10.1186/s40662-021-00243-5.
7. Chacón O, Zenteno J. Review and update on the molecular basis of Leber congenital amaurosis. *Word J Clin Cases* 2015. 3(2):112-124. doi: 10.12998/wjcc.v3.i2.112.

8. Skorczyk-Werner A, Niedziela Z, Stopa M, Krawczynski M. Novel genes variants in polish patients with Leber congenital amaurosis (LCA). *Orphanet J Rare Dis.* 2020 16(1):345. doi: 10.1186/s13023-020-01634-y.
9. Kumaran N, Ripamonti C, Kalitzeos A, Rubin G, Bainbridge J, Michaelides M. Severe Loss of Tritan Color Discrimination in RPE65 Associated Leber Congenital Amaurosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018. 59(1): 85-93. doi: 10.1167/iovs.17-22905.
10. Stunkel ML, Brodie SE, Cideciyan AV, Pfeifer WL, Kennedy EL, Stone EM, et al. Expanded retinal disease spectrum associated with autosomal recessive mutations in GUCY2D. *Am J Ophthalmol* 2018. 190:58-68. doi: 10.1016/j.ajo.2018.03.021.
11. Feng X, Wei T, Sun J, Luo Y, Huo Y, Yu P, et al. The pathogenicity of novel GUCY2D mutation in Leber congenital amaurosis 1 assessed by HPLCMS/MS. *PLoS One* 2020. 15(4):e0231115. doi: 10.1371/journal.pone.0231115.
12. Boye S. Leber congenital amaurosis caused by mutations in GUCY2D. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2014. 5(1):a017350. doi: 10.1101/cshperspect.a017350.
13. Jacobson S, Cideciyan A, Sumaroka A, Roman A, Charg J, Lu M, et al. Defining outcomes for clinical trials of Leber congenital amaurosis caused by GUCY2D mutations. *International Journal of Molecular Sciences* 2021. 22(4): 2031. doi: 10.3390/ijms22042031.
14. Maguire A, High K, Auricchio A, Wright J, Pierce E, Testa F, et al. Age-dependent effects of RPE65 gene therapy for Leber's congenital amaurosis: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet* 2009. 374 (9701): 1597-1605. doi: 10.1016/S0140-6736(09)61836-5.
15. Sharif W, Sharif Z. Leber's congenital amaurosis and the role of gene therapy in congenital retinal disorders. *Int J Ophthalmol* 2017. 10(3): 480-484. doi: 10.18240/ijo.2017.03.24.
16. DiCarlo J, Mahajan V, Tsang E. Gene therapy and genome surgery in the retina. *J Clin Invest* 2018. 128(6):2177-2188. doi: 10.1172/JCI120429.
17. Riyad J, Weber T. Intracellular trafficking of adeno-associated virus (AAV) vectors: challenges and future directions. *Gene Ther* 2021. 28(12): 683-696. doi: 10.1038/s41434-021-00243-z.
18. Aboshiha J., Dubis A., Sopy J., Nishiguchi K., Cheeseman E., Ayuso C., Preserved outer retina in AIPL1 Leber's congenital amaurosis: implications for gene therapy. *Ophthalmology* 2015. 122 (4): 862-864. doi: 10.1016/j.ophtha.2014.11.019.
19. Xu Y, Guan L, Xiao X, Zhang J, Li S, Jiang H, et al. Mutaciones nulas de ALMS1: una causa común de amaurosis congénita de Leber y distrofia severa de conos y bastones de aparición temprana. *Clin Genet.* 2016;89(4):442-7. doi: 10.1111/cge.12617.

## **26. Agradecimientos**

Al llegar a este punto es inevitable pensar en las instituciones, maestros, personas y pacientes que han permitido el desarrollo de mi persona de manera profesional.

A mi familia por siempre encontrarse a mi lado y tener paciencia por todos los momentos en los que las ocupaciones diarias no nos han permitido estar juntos.

Al amor de mi vida por dar luz y tranquilidad en los momentos de mayor estrés, por siempre estar conmigo y ayudarme a ver en lo más bello de la vida. Tenerte a mi lado y verte crecer me impulsa a superarme en todos los aspectos, gracias por permitirme conocer el amor de una manera plena, sin dudas, sin condiciones ni limitaciones y sin final.