

Revisión sobre terapia génica aprobada y recuperación visual en la amaurosis congénita de Leber por mutación en el gen RPE65

Marcela Ciccioli^{a-b}, Alejandra Antacle^{c-d}

^a Asociación de Padres de Niños con Enfermedad de Stargardt (Stargardt APNES) y Retina Argentina, Buenos Aires, Argentina.

^b PANIRD Professors (Panamerican Inherited Retinal Diseases Group).

^c Pontificia Universidad Católica Argentina, Buenos Aires, Argentina.

^d Universidad del Salvador, Buenos Aires, Argentina..

Recibido: 4 de enero de 2024.

Aprobado: 20 de febrero de 2024.

Autor corresponsal

Dra. Alejandra Antacle
Av. Libertador 5190
(1430) Buenos Aires, Argentina
+54 911 4413-3043
aantacle@gmail.com

Oftalmol Clin Exp (ISSNe 1851-2658)
2024; 17(1): e33-e40.

Agradecimiento

Agradecemos a los pacientes y sus familias la confianza y participación en las iniciativas de la asociación Stargardt APNES-Retina Argentina, sin las cuales ningún avance en la identificación genética y en la aplicación de las terapias sería posible. De igual manera valoramos el apoyo permanente a pacientes y familias por los voluntarios de la asociación.

Resumen

Las distrofias hereditarias de la retina son un conjunto de condiciones visuales que llevan progresivamente a la baja visión y/o a la ceguera. Se conocen actualmente más de 390 genes diferentes implicados como causa en estas distrofias. La amaurosis congénita de Leber se presenta de forma congénita o antes del primer año de vida y es una de las distrofias de retina de inicio temprano más severas. La amaurosis congénita de Leber y/o retinosis pigmentaria tipo 20 por variantes bialélicas patogénicas en el gen RPE65 es por ahora la única distrofia que tiene tratamiento génico aprobado por diferentes agencias regulatorias internacionales, incluyendo la Argentina desde 2021 (autorizada por la ANMAT). En la actualidad se encuentran en desarrollo protocolos de nuevas terapias génicas para otras anomalías como la enfermedad de Stargardt, el síndrome de Usher tipo IB, la retinosis pigmentaria por mutaciones en el gen RPGR, la coroideremia y muchas más. En el presente trabajo se revisarán los conceptos actuales de esta enfermedad y su terapia génica.

Palabras clave: amaurosis congénita de Leber, distrofias hereditarias de retina, gen RPE65, terapia génica.

Review on approved gene therapy and visual recovery in Leber congenital amaurosis due to mutation in the RPE65 gene

Abstract

Hereditary retinal dystrophies (HRDs) are a group of visual conditions that progressively lead to low vision and/or blindness. More than 390 different genes are currently known to be involved as a cause in HRDs. Leber congenital amaurosis (LCA) presents congenitally or before the first year of life and is one of the most severe early-onset retinal dystrophies. Leber's congenital amaurosis and/or retinitis pigmentosa type 20 due to pathogenic bi-allelic variants in the RPE65 gene is so far the only dystrophy that has gene treatment approved by different international regulatory agencies, including Argentina (through ANMAT) since 2021. New gene therapy protocols are currently under development for other diseases such as Stargardt's disease, Usher syndrome type IB, retinitis pigmentosa due to mutations in the RPGR gene, choroideremia and many others. In the present work we will review the current concepts of this disease and its gene therapy.

Keywords: Leber congenital amaurosis, Hereditary retinal dystrophies, all transretinal, gene RPE65, gene therapy.

Revisão sobre terapia gênica aprovada e recuperação visual na amaurose congênita de Leber devido à mutação no gene RPE65

Resumo

As distrofias retinianas hereditárias são um conjunto de condições visuais que levam progressivamente à baixa visão e/ou cegueira. Atualmente, sabe-se que mais de 390 genes diferentes estão envolvidos nessas distrofias. A amaurose congênita de Leber ocorre congenitamente ou antes do primeiro ano de vida e é uma das distrofias retinianas de início precoce mais graves. A amaurose congênita de Leber e/ou retinite pigmentosa tipo 20 devido a variantes bialélicas patogênicas no gene RPE65 é atualmente

a única distrofia que tem um tratamento genético aprovado por diferentes agências reguladoras internacionais, incluindo a Argentina desde 2021 (autorizado pela ANMAT). Atualmente, novos protocolos de terapia genética estão sendo desenvolvidos para outras anomalias, como doença de Stargardt, síndrome de Usher tipo IB, retinite pigmentosa devido a mutações no gene RPGR, coroideremia e muito mais. No presente trabalho serão revistos os conceitos atuais desta doença e sua terapia genética.

Palavras-chave: amaurose congênita de Leber, ACL, distrofias retinianas hereditárias, gene RPE65, terapia gênica.

Introducción

Las distrofias hereditarias de la retina (DHR) son un conjunto de condiciones visuales que conducen progresivamente a la baja visión y/o a la ceguera. Son la primera causa de ceguera en la población entre 15 y 45 años, provocando un enorme impacto en la inclusión escolar, laboral y en la calidad de vida de las personas que las padecen y sus familias, así como en los sistemas de escolares, y de salud¹. En conjunto tienen una prevalencia de 1:2000 a 1:3000 y 1:4000²⁻³. Por lo tanto, son enfermedades poco frecuentes (EPOF) en los términos de la ley 26.689 (Ley de protección de las personas con EPOF de Argentina, debido a que cada una tiene una prevalencia poblacional menor a 1:2000).

Se conocen actualmente más de 390 genes diferentes implicados cuyo fallo causa distrofia hereditaria retinal²⁻⁴, entre los que las variantes en RPE65 producen retinosis pigmentaria (RP) (RP20, OMIM # 613794) y amaurosis congénita de Leber ACL/DRSOT (LCA2, OMIM # 204100)⁵⁻⁷. La historia natural de las distrofias hereditarias por RPE65 es variable con típico origen temprano⁸⁻⁹.

Se calcula en el mundo unas 2,5 millones de personas afectadas por DHR, donde la retinosis pigmentaria es la más común (1:4000) mientras que la incidencia de amaurosis varía de 2-3:100.000 a 1:81.000¹⁰.

Se caracterizan por la heterogeneidad de sus causas genéticas y presentación fenotípica¹⁻².

Esta patología puede producirse por variantes patogénicas en 25 genes conocidos hasta el momento¹⁰ y la prevalencia de variantes en RPE65 dentro de los distintos tipos de amaurosis de Leber se estima entre el 5% y el 6%^{10, 12-13}.

Según la edad de presentación, la velocidad de progresión y el fenotipo clínico la amaurosis congénita de Leber se encuentra entre las más severas ya que la pérdida visual comienza en el nacimiento o en la infancia temprana. Felizmente, en la actualidad existe una opción para su manejo terapéutico mediante terapia génica que ha sido aprobada por entidad regulatoria de Estados Unidos (FDA) en 2017⁸. Por lo mencionado anteriormente, considerando la actualidad y relevancia del tema, el propósito del presente trabajo es revisar los conceptos básicos para establecer el diagnóstico de la amaurosis congénita de Leber por afectación del gen RPE65 y sus distintos tipos de mutaciones, considerando la relevancia de poder conocer que la terapia génica es factible y debe considerarse en los casos adecuados.

Desarrollo

La amaurosis congénita de Leber (ACL) es una alteración primaria de los fotorreceptores que se presenta de forma congénita o antes del primer año de vida. Fue descrita en 1869 por el oftalmólogo alemán Theodor Karl Gustav von Leber (1840-1917), quien describió esta patología cuando observó en una escuela de niños no videntes que el 25% de ellos era de hijos de padres consanguíneos¹⁴. La ACL es una enfermedad extraordinariamente heterogénea tanto clínica como genéticamente. Esta característica fue observada por Waardenburg en 1963 cuando describió el caso de hijos sanos nacidos de parejas donde ambos padecían la enfermedad¹⁵.

Hasta la fecha, se han descrito mutaciones que causan ACL en los genes que codifican para proteínas retinales específicas. Tales genes son: GUCY2D, CEP290, RPGRIP1, RDH12, SPATA7, AIPL1, RD3, CRB1, CRX, IMPDH1, IQCB1, KCNJ13, LCA5, NMNAT1, TULP1, RPE65, LRAT, GDF6, USP45.

La amaurosis congénita de Leber, la distrofia retinal severa de origen temprano y/o retinosis pigmentaria tipo 20 por variantes bialélicas patogénicas en el gen RPE65 son distrofias hereditarias de la retina muy poco frecuentes.

Se presenta típicamente desde el nacimiento hasta los primeros cinco años de vida^{10, 12-13, 16} con un comportamiento visual alterado, una agudeza visual variable y un severo déficit de la retina periférica que se traduce en nictalopía y nistagmus⁷, con una autofluorescencia de fundus no detectable a 488 nm pero con un fondo de ojo con anatomía conservada (solamente ligero afinamiento vascular). El electrorretinograma está abolido o es residual en respuesta al flicker de 30 Hz² en pacientes que presentan errores refractivos miópicos o hipermetropes⁵ y en la mayoría de los cuales se puede observar el signo dígito-ocular de Franceschetti. La visión es relativamente estable durante la primera década de la vida y se va reduciendo durante la segunda década hasta la ceguera legal (20/200 o campo visual de menos de 20°). Cincuenta por ciento de los pacientes están legalmente ciegos en la cuarta década y a partir de allí muchos llegan a perder también la percepción de la luz. Según Chung y colaboradores, la agudeza visual en niños de 4 a 10 años se presenta alrededor de 20/126 (3/10)¹⁷⁻¹⁹ en la serie de casos más grande reportada, aunque algunos fenotipos pueden tener una evolución más benigna probablemente por efecto de variantes hipomorfas^{10, 20-23}. La mayoría de los casos responde a herencia autosómico recesiva aunque existe bibliografía que informa herencia autosómico dominante en una pequeña proporción de casos^{21, 23-25}.

Hasta enero de 2024, los autores de este trabajo llevaban diagnosticados 17 pacientes en la Argentina, de los cuales fueron tratados 2: una mujer de 52 años de edad y un adolescente de 13 años entre 2022 y 2023. También, en el mes de enero de 2024 trataron al paciente más pequeño de 4 años de edad con muy buena respuesta.

Diagnóstico genético

En los seres humanos el gen RPE65 se ubica en el cromosoma 1 (1p31) y se expande por aproximadamente 20 KB²⁶. El gen incluye 14 exones que

codifican para una enzima isomerasa específica del epitelio pigmentario retinal (EPR) de 65 kDa⁹ denominada isomerohidrolasa retinoide RPE65. La proteína tiene 533 aminoácidos⁸ y es altamente conservada en la escala animal. Se expresa en concentraciones altas sólo en el EPR.

Hay dos formas de RPE65: una forma principal unida a membrana (mRPE65) palmitoilada y otra forma soluble (sRPE65)⁹. La proteína RPE65 está involucrada en el ciclo visual. Cuando la luz alcanza los pigmentos fotosensibles en la retina, convierte el 11-cis-retinal en all-trans-retinal. RPE65 codifica para una isomerasa que recicla el éster de all-trans-retinil éster en 11-cis-retinol, listo para un nuevo evento de fotoisomerización. La ausencia de proteína RPE65 provoca una disminución en los niveles de 11-cis-retinol y la acumulación de ésteres de retinilo que son dañinos para el EPR, y conduce a bajos niveles de rodopsina (en los bastones) que es necesaria para la fototransducción^{9,27}.

Las mutaciones en el gen RPE65 alteran el ciclo visual reduciendo la concentración de la proteína RPE65 que es crucial para la conversión de la luz en una señal eléctrica²⁸. Esto produce la consecuente pérdida de los fotorreceptores y la declinación visual irreversible¹¹.

El proceso patológico en pacientes con mutaciones bialélicas en RPE65 conduce a la acumulación de un precursor tóxico que termina dañando a los fotorreceptores y células del EPR presentando el síntoma característico de la ceguera nocturna y la pérdida de la visión periférica. Los conos son finalmente afectados disminuyendo la agudeza visual y la percepción del color²⁹.

En la mayoría de los casos, el diagnóstico genético se realizará mediante el estudio de un panel multigénico que permita analizar todas las regiones codificantes de los genes implicados en distrofias hereditarias de la retina, que incluya a RPE65 y las regiones flanqueantes exón/intrón para detectar variantes que afecten el proceso de "splicing". Se pueden utilizar estudios más abarcativos (exoma o genoma) cuando la clínica no sea suficientemente indicativa del tipo de patología que presenta el paciente. Se debe realizar el análisis de secuencia, filtrado de deleciones y

duplicaciones, y es necesario demostrar cosegregación para determinar bialelicidad.

El diagnóstico genético se determina en los afectados de ACL RPE65/DRSOT al encontrar variantes patogénicas bialélicas en RPE65 mediante test moleculares. Sólo los pacientes con variantes bialélicas en RPE65³⁰ y células fotorreceptoras viables (con resto visual) son elegibles para la terapia génica. Considerando que se trata de un procedimiento que involucra vitrectomía bilateral seguido de la inyección subretinal²⁵ con los riesgos de tal procedimiento, es importante establecer con precisión si las mutaciones son bialélicas y su patogenicidad de acuerdo con la normativa del ACMG (2015)³¹, que introdujo las directrices para clasificar las variantes en cinco categorías: benigna, probablemente benigna, variante de significado incierto, probablemente patogénica y patogénica, explicando el proceso de categorización y asignación de patogenicidad en base a evidencia confiable (poblacional, computacional, funcional y segregacional).

Terapia génica

Hasta hace poco tiempo no contábamos con terapias disponibles para reducir el impacto que las distrofias hereditarias de la retina producen en los afectados y sus familias, con excepción del soporte con suplementos dietarios y filtros para evitar el daño lumínico por las longitudes de onda corta en retinas deterioradas por el proceso químico subyacente a las distrofias hereditarias. Este soporte no evita el progreso de la patología degenerativa ni detiene la pérdida visual, aunque permite hacer más lentos los procesos degenerativos. El enfoque se dirigía especialmente al seguimiento clínico, educación y asesoramiento del paciente y su familia, el entrenamiento en apoyos técnicos⁶.

Antes de la aprobación de voretigene neparvovec no había ningún tratamiento que pudiera detener la inexorable pérdida de visión por mal funcionamiento de RPE65⁸, generando una demanda insatisfecha de tratamientos efectivos, como fue claramente expresado en el anexo publicado por la Asociación Médica Europea en 2019³².

La terapia génica es una herramienta que promete la posibilidad de tratamiento en las distrofias hereditarias retinales ya que permite introducir un gen correcto o anular alguno que no está funcionando bien, o introducir un gen para que se produzca una función que la célula no tenía, etc.

La utilización de vectores virales adeno-asociados no produce patogenicidad en seres humanos, exhiben un mínimo nivel de inmunogenicidad, transducen genes en un rango diverso de células blanco (especialmente las células posmitóticas diferenciadas de la retina) y mantienen niveles sostenidos de expresión transgénica²⁹.

La degeneración celular en células retinales es irreversible, por lo tanto la eficacia del vector está determinada por la habilidad de alcanzar efectivamente las células blanco y el mayor número de células viables posible para la inserción del gen²⁹.

El objetivo de la terapia en estos pacientes es restaurar permanentemente la visión, por lo que el vector elegido debe poder transducir la expresión de RPE65 a largo plazo sin ninguna inmunogenicidad. El ojo es un órgano ideal para terapia génica; la barrera hemato-retinal minimiza cualquier inmunogenicidad (que repercuta negativamente en la expresión transgénica a corto plazo)²⁹. El pequeño tamaño de la retina también implica menos fármaco para obtener el efecto buscado y se dispone de numerosos modelos animales y métodos no invasivos para monitorear al agente terapéutico introducido³¹. Aunque la vía de administración subretinal se considera invasiva, es necesario administrar voretigene neparvovec a través de una inyección subretinal, ya que el epitelio pigmentario de la retina y las células fotorreceptoras pueden alcanzarse más efectivamente y con potencialmente menos respuesta inmunológica que a través de una inyección intravítrea menos invasiva²⁹.

La administración subretinal en dosis únicas de voretigene neparvovec proporcionó mejoras clínicas y estadísticamente significativas en la capacidad de desplazarse a niveles de luz más bajos (situación imposible para pacientes con amaurosis congénita de Leber o con retinosis pigmentaria por variantes en RPE65) como lo demuestra el cambio en la puntuación en MLMT

(*Multi luminance mobility testing*, i.e. test de multiluminancia) en comparación con el grupo de control, tanto en pacientes pediátricos como en adultos al año del ensayo clínico en fase 3³³. Los efectos clínicos demostrados a través de puntuaciones MLMT mejoradas y pruebas FST son representativos de la respuesta mejorada de los fotorreceptores a la percepción de la luz a diferentes niveles lumínicos²⁰. Estos efectos se mantienen 4 años después de la inyección⁷; más datos de seguimiento (a través de 15 años en total) se seguirán evaluando²⁷.

La terapia génica con voretigene neparvovec (Luxturna[®]) utiliza un vector viral adenoasociado serotipo 2 (AAV2) que entrega una copia funcional del gen RPE65 en pacientes con reducida o nula producción de la proteína 65 kDa, lo que permite restablecer el ciclo visual dentro de células viables del EPR mediante una inyección subretinal de voretigene neparvovec de dosis única en cada ojo³⁴.

Esta terapia es la primera terapia génica que fue aprobada en Estados Unidos (2017), Unión Europea (2019), Reino Unido (2019), Brasil (2020) y Argentina (2021) para tratar pacientes adultos y niños de corta edad con distrofias hereditarias de la retina determinadas por mutaciones bialélicas en RPE65. Ya hay importante bibliografía que reúne las propiedades farmacológicas de voretigene neparvovec y su perfil de eficacia y seguridad para pacientes con esta enfermedad, analizados en la fase III³³ del ensayo clínico.

El efecto de la terapia se demostró a través de puntuaciones MLMT mejoradas y pruebas de umbral de sensibilidad a la luz de campo completo FST. Los resultados son representativos de la respuesta mejorada de los fotorreceptores y la percepción de la luz a diferentes niveles de luz.

Voretigene neparvovec está aprobado en varios países para el tratamiento de pérdida de visión en pacientes adultos y pediátricos con distrofias hereditarias de la retina debido a mutaciones bialélicas en el gen RPE65 confirmadas y con células retinales viables³³. El tratamiento es una inyección subretinal de dosis única en cada ojo (1,5 × 10¹¹ genomas vectoriales por ojo en un volumen total de 0,3 ml) administrados con un intervalo no menor de 6 días³³⁻³⁴. Se

recomienda la administración de un corticosteroide oral sistémico a una dosis equivalente a 1 mg/kg/día de prednisona (máximo 40 mg/día) durante 7 días, comenzando 3 días antes de la administración de voretigene neparvovec en el primer ojo.

La dosis de corticosteroides debe reducirse gradualmente durante los 10 días siguientes; sin embargo, si la reducción gradual no se completa en los 3 días anteriores a la administración de voretigene neparvovec en el segundo ojo, entonces la dosis de inicio de corticosteroides tomará precedencia.

Voretigene neparvovec no está recomendado para pacientes menores de 12 meses en los Estados Unidos³³⁻³⁸; la seguridad y la eficacia no se ha establecido para pacientes menores de 4 años en la Unión Europea³⁵, y dado que los estudios clínicos no incluyeron pacientes de 65 años y mayores, la seguridad y eficacia de voretigene neparvovec no se conoce en esta población³⁷. Pero en los distintos países se han tratado pacientes desde 12 meses hasta 65 años de edad.

Conclusión

Hasta hace poco tiempo no existían terapias génicas para los pacientes con distrofias hereditarias de retina. Actualmente todo paciente portador de una distrofia retinal debería ser secuenciado para poder tener un diagnóstico correcto de la patología, conocer el gen afectado y la mutación para que esté informado y saber si es candidato o no a las terapias en advenimiento. En la actualidad se encuentran en desarrollo protocolos de nuevas terapias para enfermedades como la LCA (otros genes), la enfermedad de Stargardt, el síndrome de Usher tipo IB, la retinosis pigmentaria por mutaciones en el gen RPGR, la coroideremia y muchas más.

Es importante que los pediatras conozcan estas patologías y su manejo clínico porque deberán acompañar a las familias y pacientes en este tipo de tratamientos que están en crecimiento.

Referencias

1. Cremers FPM, Boon CJF, Bujakowska K, Zeitz C. Special issue introduction: Inherited retinal disease: novel candidate genes, genotype-phenotype correlations, and inheritance models. *Genes (Basel)* 2018; 9: 215.
2. Motta FL, Martin RP, Filippelli-Silva R *et al.* Relative frequency of inherited retinal dystrophies in Brazil. *Sci Rep* 2018; 8: 15939.
3. Viriato D, Bennett N, Sidhu R *et al.* An economic evaluation of voretigene neparvovec for the treatment of biallelic RPE65-mediated inherited retinal dystrophies in the UK. *Adv Ther* 2020; 37: 1233-1247.
4. O'Neal TB, Luther EE. Retinitis pigmentosa. En: *StatPearls* [en línea]. Treasure Island (FL): StatPearls, 2023. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519518/>
5. Aouadj C, Banhazi J, Shaikh J *et al.* Epidemiology of RPE65 gene mutation related inherited retinal dystrophies: a systematic literature review [abstract no. PSY28]. *Value Health* 2018; 21 (Suppl 3): S440.
6. Astuti GDN, Bertelsen M, Preising MN *et al.* Comprehensive genotyping reveals RPE65 as the most frequently mutated gene in Leber congenital amaurosis in Denmark. *Eur J Hum Genet* 2016; 24: 1071-1079.
7. Darrow JJ. Luxturna: FDA documents reveal the value of a costly gene therapy. *Drug Discov Today* 2019; 24: 949-954.
8. Thompson DA, Ali RR, Monaciano Consortium *et al.* Advancing therapeutic strategies for inherited retinal degeneration: recommendations from the Monaciano Symposium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015; 56: 918-931.
9. Travis GH, Golczak M, Moise AR, Palczewski K. Diseases caused by defects in the visual cycle: retinoids as potential therapeutic agents. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2007; 47: 469-512.
10. Jacobson SG, Aleman TS, Cideciyan AV *et al.* Identifying photoreceptors in blind eyes caused by RPE65 mutations: prerequisite for human gene therapy success. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 6177-6182.

11. Kumaran N, Pennesi ME, Yang P *et al.* Leber congenital amaurosis / Early-onset severe retinal dystrophy overview. En: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA *et al.* (eds). *GeneReviews* [en línea]. Seattle: University of Washington at Seattle, 2023. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK531510/>.
12. Cideciyan AV. Leber congenital amaurosis due to RPE65 mutations and its treatment with gene therapy. *Prog Retin Eye Res* 2010; 29: 398-427.
13. Cideciyan AV, Jacobson SG, Beltran WA *et al.* Human retinal gene therapy for Leber congenital amaurosis shows advancing retinal degeneration despite enduring visual improvement. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110: E517-E525.
14. Sen M, Honavar SG. Theodor Karl Gustav von Leber: the sultan of Selten. *Indian J Ophthalmol* 2022; 70: 2218-2220.
15. Waardenburg PJ, Schappert-Kimmijser J. On various recessive biotypes of Leber's congenital amaurosis. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1963; 41: 317-320.
16. Huang D, Swanson EA, Lin CP *et al.* Optical coherence tomography. *Science* 1991; 254: 1178-1181.
17. Chung DC, McCague S, Yu ZF *et al.* Novel mobility test to assess functional vision in patients with inherited retinal dystrophies. *Clin Exp Ophthalmol* 2018; 46: 247-259.
18. Chung DC, Lee K, Reape KZ *et al.* Long-term effect of voretigene neparvovec on the full-field light density threshold test of patients with RPE65 mutation-associated inherited retinal dystrophy: post hoc analysis of phase I trial data [abstract]. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2019; 60: 3398.
19. Chung DC, Bertelsen M, Lorenz B *et al.* The natural history of inherited retinal dystrophy due to biallelic mutations in the RPE65 gene. *Am J Ophthalmol* 2019; 199: 58-70.
20. Bennett J, Wellman J, Marshall KA *et al.* Safety and durability of effect of contralateral-eye administration of AAV2 gene therapy in patients with childhood-onset blindness caused by RPE65 mutations: a follow-on phase 1 trial. *Lancet* 2016; 388: 661-672.
21. Leroy BP, Drack A, Bennett J *et al.* Duration of effect of ocular gene therapy: 4 year follow-up data from the phase III voretigene neparvovec trial in patients with biallelic RPE65 mutation associated retinal dystrophy [abstract]. En: Euretina Congress (19th: 2019: Paris). *Programme*.
22. Maguire AM, High KA, Auricchio A *et al.* Age-dependent effects of RPE65 gene therapy for Leber's congenital amaurosis: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet* 2009; 374: 1597-1605.
23. Russell SR, Maguire AM, Bennett J *et al.* Visual function questionnaire responses in the voretigene neparvovec phase 3 trial [abstract]. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2019; 60: 4968.
24. Drack AV, Bennett J, Russell S *et al.* How long does gene therapy last? 4-year follow-up of phase 3 voretigene neparvovec trial in RPE65-associated LCA/inherited retinal disease [abstract no. 017]. *J AAPOS* 2019; 23: e7.
25. Russell SR, Bennett J, Wellman JA *et al.* Year 2 results for a phase 3 trial of voretigene neparvovec in biallelic RPE65-mediated inherited retinal disease [abstract]. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2017; 58: 4122.
26. Russell SR, Bennett J, Wellman J *et al.* Three-year update for the phase 3 voretigene neparvovec study in biallelic RPE65 mutation-associated inherited retinal disease [abstract]. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2018; 59: 3900.
27. Ziccardi L, Cordeddu V, Gaddini L *et al.* Gene therapy in retinal dystrophies. *Int J Mol Sci* 2019; 20: 5722.
28. Hanein S, Perrault I, Gerber S *et al.* Leber congenital amaurosis: comprehensive survey of the genetic heterogeneity, refinement of the clinical definition, and genotype-phenotype correlations as a strategy for molecular diagnosis. *Hum Mutat* 2004; 23: 306-317.
29. Kumaran N, Ripamonti C, Kalitzeos A *et al.* Severe loss of tritan color discrimination in RPE65 associated Leber congenital amaurosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018; 59: 85-93.
30. Zimmermann M, Lubinga SJ, Banken R *et al.* Cost utility of voretigene neparvovec for biallelic RPE65-mediated inherited retinal disease. *Value Health* 2019; 22: 161-167.

31. Richards S, Aziz N, ACMG Laboratory Quality Assurance Committee *et al.* Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015; 17: 405-424.
32. European Medicines Agency. [Luxturna]: summary of product characteristics Amsterdam, 2019. Disponible en: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/luxturna-epar-product-information_en.pdf
33. Russell SR, Maguire AM, Bennett J *et al.* Visual function questionnaire responses in the voretigene neparvovec phase 3 trial [abstract]. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2019; 60: 4968.
34. Spark Therapeutics. Luxturna [US prescribing information]. Disponible en: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/luxturna>
35. Fischer MD, Simonelli F, PERCEIVE Study Group *et al.* Real-world safety and effectiveness of voretigene neparvovec: results up to 2 years from the prospective, registry-based PERCEIVE study. *Biomolecules* 2024; 14: 122.
36. Lorenz B, Wabbels B, Wegscheider E *et al.* Lack of fundus autofluorescence to 488 nanometers from childhood on in patients with early-onset severe retinal dystrophy associated with mutations in RPE65. *Ophthalmology* 2004; 111: 1585-1594.
37. Johnson S, Buessing M, O'Connell T *et al.* Cost-effectiveness of voretigene neparvovec-rzyl vs standard care for RPE65-mediated inherited retinal disease. *JAMA Ophthalmol* 2019; 37: 1115-1123.