



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Centro de Estudios de Postgrado

Trabajo Fin de Máster

**ANÁLISIS DE LA RELACIÓN
ENTRE GENOTIPO Y FENOTIPO EN
LA ENCEFALOPATÍA EPILÉPTICA
INFANTIL STXBP1**

Alumno/a: Isabel Trigo Pérez.

Tutor/a: Francisco J. Esteban Ruiz.

Dpto: Biología Experimental.

Julio de 2020



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Centro de Estudios de Postgrado

Trabajo Fin de Máster

**ANÁLISIS DE LA RELACIÓN
ENTRE GENOTIPO Y FENOTIPO EN
LA ENCEFALOPATÍA EPILÉPTICA
INFANTIL STXBP1**

Alumno/a: Isabel Trigo Pérez.

Tutor/a: Francisco J. Esteban Ruiz.

Dpto: Biología Experimental.

Julio de 2020

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	5
1.1. Antecedentes.....	5
1.1.1. Encefalopatías epilépticas.....	5
1.1.2. Encefalopatías epilépticas infantiles.	6
1.1.3. STXBP1.....	7
1.1.4. Encefalopatía STXBP-1.....	8
1.1.5. Biología de sistemas	11
1.2. Justificación del trabajo	13
1.3. Hipótesis	13
2. OBJETIVOS.....	14
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	15
3.1. Construcción de redes de asociación.	15
3.2. Obtención de las variantes genéticas al gen STXBP1.....	15
3.3. Detección de frecuencias alélicas en población normal.	16
3.4. Identificación de los tipos de EIEE y sus genes asociados	¡Error! Marcador no definido.
3.5. Análisis de enriquecimiento funcional	16
3.6. Comorbilidades.....	17
3.7. Análisis de agrupamiento.	18
3.8. Redes de interacción a partir de los genes comunes por cluster.	18
3.9. Visualización de intersecciones mediante diagramas de Venn.	19
4. RESULTADOS.	20
4.1. Construcción de la red de asociación entre el gen STXBP1 y enfermedad.	20
4.2. Construcción de la red de asociación entre variantes genéticas de STXBP1 y enfermedad.	21
4.3. Variantes genéticas de STXBP1.	22
4.4. Frecuencias alélicas en población normal.	23
4.5. Tipos de EIEE.....	24
4.6. Análisis de enriquecimiento funcional.	25
4.7. Comorbilidades.....	27
4.7.1. Análisis de agrupamiento.	31
4.7.2. Análisis funcional de los genes comunes por cluster.....	31
4.7.3. Redes de interacción a partir de los genes comunes por cluster.	36
5. DISCUSIÓN.....	38
6. CONCLUSIÓN.....	42
7. BIBLIOGRAFÍA.....	43
8. ANEXO I.....	46
9. CURRÍCULO VITAE	57

RESUMEN

La encefalopatía epiléptica infantil temprana tipo 4 (EIEE4), también conocida como Síndrome STXBP1, está considerada como una epilepsia grave de la infancia. Forma parte de un grupo de trastornos que se caracterizan por presentar convulsiones epilépticas frecuentes que se asocian a un retraso o regresión del desarrollo. El gen STXBP1 está implicado en el proceso de liberación de neurotransmisores por parte de las vesículas sinápticas y codifica la proteína de unión a syntaxina 1. El objetivo de este Trabajo de Fin de Máster es contribuir al estudio de la relación entre la STXBP1-E sindrómica y la STXBP1-E molecular y, además, estudiar las diferentes comorbilidades que se presentan en pacientes diagnosticados con STXBP1. Para ello, se realiza un abordaje desde una perspectiva de Biomedicina de Sistemas y presentamos una primera caracterización de la comorbidad molecular en la EIEE4. Los resultados obtenidos muestran una amplia variabilidad entre genotipos y fenotipos, sugiriendo que pueden existir otros procesos que están ejerciendo un papel en esta patología y que aún no se conocen.

ABSTRACT

Early childhood epileptic encephalopathy type 4 (EIEE4), also known as STXBP1 syndrome, is considered to be a severe epilepsy in childhood. This syndrome belongs to a group of disorders characterized by presenting frequent epileptic seizures associated with a delay or regression of development. The STXBP1 gene is involved in the process of neurotransmitter release by synaptic vesicles and encodes the syntaxin-binding protein 1. The aim of this work is to contribute to the study of the relationship between syndromic STXBP1-E and molecular STXBP1-E and, in addition, to study the different comorbidities that co-occur in patients diagnosed with STXBP1. To do this, an approach is made from a Systems Biomedicine perspective and we present a first characterization of the molecular comorbidity in the EIEE4. The results obtained show a wide variability between genotypes and phenotypes, suggesting that other processes not yet well known may play a role in this pathology.

1. INTRODUCCIÓN.

1.1. Antecedentes.

1.1.1. Encefalopatías epilépticas.

Se conocen como encefalopatías epilépticas aquellas condiciones en las que se cree que las anomalías epileptiformes tienen un papel significativo en la alteración cerebral general (Helbig y Abou, 2016). Esta afección se observa más frecuentemente a edades tempranas en las que su gravedad es mayor, ya que la actividad epiléptica en ese período puede afectar no solo a las funciones existentes, sino también a la aparición de nuevas enfermedades relacionadas con el desarrollo (Howel *et al.*, 2016). Se conocen muchos síndromes de epilepsia de aparición temprana, las cuales se caracterizan por crisis, electroencefalogramas (EEG) y características neurológicas específicas. Además, se puede dar el caso en el que un síndrome de epilepsia de aparición temprana evolucione a otro distinto (McTague *et al.*, 2016). Sin embargo, una actividad epileptiforme excesiva que cause alteración temporal de la función cerebral no es una característica principal de las encefalopatías genéticas epilépticas. De hecho, son las comorbilidades del neurodesarrollo las que sí lo son. Es decir, si la etiología subyacente explica el deterioro cognitivo, y la epilepsia no empeora dicho deterioro, no sería apropiado emplear el término de encefalopatía epiléptica (Helbig y Abou, 2016; Howel *et al.*, 2016).

A medida que se caracterizan los síndromes de epilepsia familiar, se observan una muy amplia gama de fenotipos en las familias, incluso se pueden detectar diferencias fenotípicas clave entre individuos con la misma alteración genética. Por lo tanto, se puede decir que existen factores que influyen en la expresión fenotípica que aún no se han determinado. Todo esto sin descartar la evidencia de que existen genes de la epilepsia muy bien caracterizados y que tienen un marcado papel en su etiología. El tipo y momento de las mutaciones durante el desarrollo, el tiempo y la localización de la expresión génica fisiológica, los factores epigenéticos, y los modificadores de genes son algunos de los factores que contribuyen a la heterogeneidad fenotípica. Esta variabilidad es un tema emergente para las epilepsias genéticas, lo que supondrá un alto impacto en los enfoques de medicina personalizada para su tratamiento. Además de la heterogeneidad fenotípica, también existe una muy variada base genotípica asociada a cada síndrome de epilepsia (Helbig y Abou, 2016; McTague *et al.*, 2016).

1.1.2. Encefalopatías epilépticas infantiles.

Las epilepsias graves de la infancia son un grupo de trastornos que se caracterizan por presentar convulsiones epilépticas frecuentes asociadas con un retraso o regresión del desarrollo. Estos pacientes presentan una actividad epileptiforme abundante en el EEG y diferentes tipos de crisis. Además, el inicio de estas afecciones puede ocurrir en un contexto de desarrollo normal o retrasado (McTague *et al.*, 2016).

En el desarrollo temprano de la encefalopatía epiléptica infantil, tanto las anomalías estructurales del cerebro como los factores genéticos que involucran variantes de genes, como por ejemplo KCNQ2, CDKL5, SCN1A y STXBP1, presentan un papel clave (Al Mehdi *et al.*, 2019). La encefalopatía KCNQ2 está asociada con un síndrome electroclínico neonatal llamado epilepsia neonatal familiar benigna (BFNE). En esta encefalopatía, la haploinsuficiencia es el mecanismo fisiopatológico principal. Por otro lado, la encefalopatía CDKL5 es de inicio temprano y tiene una mayor frecuencia en mujeres (Auvin *et al.*, 2016).

El síndrome de West y el síndrome de Dravet son las encefalopatías epilépticas infantiles tempranas más comunes (McTague *et al.*, 2016). El síndrome de West se caracteriza por la presencia de espasmos epilépticos, regresión psicomotora y un patrón de EEG muy específico llamado hirsarritmia. Este síndrome representa uno de los más graves de la infancia debido a su afectación al desarrollo. Por otro lado, el síndrome de Dravet se caracteriza por presentar una epilepsia refractaria con convulsiones de inicio temprano, febril o afebril, generalizadas o unilaterales, clónicas o tónico-clónicas. En esta encefalopatía la principal causa genética son las mutaciones del gen SCN1A (Auvin *et al.*, 2016).

Existen otros síndromes de encefalopatía epiléptica infantil, como el síndrome de Lennox-Gastaut, que se presenta en la niñez una vez pasada la infancia. O el síndrome de Ohtahara, de desarrollo temprano, que se asocia a dos síndromes a la vez: síndrome de West y síndrome de Lennox-Gastaut (Al Mehdi *et al.*, 2019; Auvin *et al.*, 2016).

Por último, la encefalopatía STXBP1 es una sinaptopatía aún poco conocida, con un amplio espectro de trastornos causados por mutaciones en el gen STXBP1. Es una de las principales encefalopatías epilépticas infantiles tempranas (EIEE) (Kovačević *et al.*, 2018), tal y como se describirá a continuación.

1.1.3. STXBP1.

El gen STXBP1 está implicado en el proceso de liberación de neurotransmisores por parte de las vesículas sinápticas. Este gen consta de 20 exones y está ubicado en el brazo largo del cromosoma 9, concretamente en la posición 34.11 (9q34.11). Codifica la proteína de unión a sintaxina 1 (STXBP1 o también conocida como Munc18-1). Esta proteína pertenece a la familia SEC1 de proteínas de tráfico de membrana, que se expresan principalmente en el cerebro y la neocorteza durante el desarrollo y la vida postnatal. Juega un papel importante tanto en el acoplamiento vesicular presináptico como en la fusión a través de la interacción entre el factor sensible a la N-etilmaleimida soluble y las proteínas del complejo receptor de proteínas de unión (SNARE), de modo que forma un complejo que regula la liberación de neurotransmisores por parte de las vesículas sinápticas (Al Mehdi *et al.*, 2019; Murillo, 2019; O'Brien *et al.*, 2019; Stamberger *et al.*, 2016; Stamberger *et al.*, 2017).

La liberación de neurotransmisores en el espacio sináptico requiere la fusión regulada de la vesícula sináptica con la membrana plasmática. Este mecanismo se denomina acoplamiento y cebado de vesículas. Entre las proteínas más importantes involucradas en dicho proceso se encuentra el complejo sináptico SNARE. Este complejo está compuesto por tres proteínas diferentes: sinaptobrevina (VAMP), que se encuentra en la membrana de la vesícula sináptica, sintaxina y SNAP25 (proteína asociada al sinaptosoma de 25 KDa). Estas dos últimas proteínas se encuentran en la membrana plasmática, y las tres moléculas forman un complejo de cuatro hélices muy estable que aproxima la membrana vesicular a la membrana plasmática, favoreciendo así la fusión de las membranas (Al Mehdi *et al.*, 2019; Stepien y Rizo, 2019).

La disociación del complejo SNARE se lleva a cabo gracias la mediación de las proteínas NSF (*n-ethylmaleimide-sensitive factor*) y SNAP (*NSF associated proteins*), normalmente para reciclar esos complejos SNARE y utilizarlos para una nueva fusión. Cuando las proteínas asociadas a la vesícula (Sinaptobrevina o VAMP) se adhieren a las asociadas a la membrana (Sintaxina-1), se puede dar lugar a la fusión vesicular y, en consecuencia, a la liberación del neurotransmisor (Stamberger *et al.*, 2017; Stepien y Rizo, 2019).

Varios estudios indican que Munc18-1 (STXBP1) forma parte fundamental en el acoplamiento, cebado y la fusión vesicular. Uno de sus papeles es interaccionar con la sintaxina-1 en su conformación cerrada. Esto es importante, puesto que la formación del complejo SNARE se ve obstaculizada por la conformación cerrada de sintaxina-1. Munc18-1 y Munc13-1 también participan en la formación del complejo SNARE mediante un mecanismo resistente a NSF-SNAP. Munc18-1 se une en primer lugar a la sintaxina-1 cuando se encuentra en su conformación cerrada, mientras que Munc13-1 puentea la vesícula y las membranas

plasmáticas y ayuda a abrir la conformación de la sintaxina-1 (Figura 1) (Stepien y Rizo, 2019).

Las mutaciones que afectan el gen STXBP1 dan lugar a una proteína Munc18-1 no funcional, por lo que es incapaz de unirse a la sintaxina-1. Como consecuencia, la proteína es inactiva y no puede unir a su vez a las proteínas Synaptobrevina y SNAP25. La ausencia del complejo SNARE inhibe la unión de la vesícula sináptica a la membrana presináptica, bloqueando así la secreción de neurotransmisores inhibidores y causando una hiperexcitación de las neuronas, lo que se asocia al desencadenamiento de una crisis (Al Mehdi *et al.*, 2019).

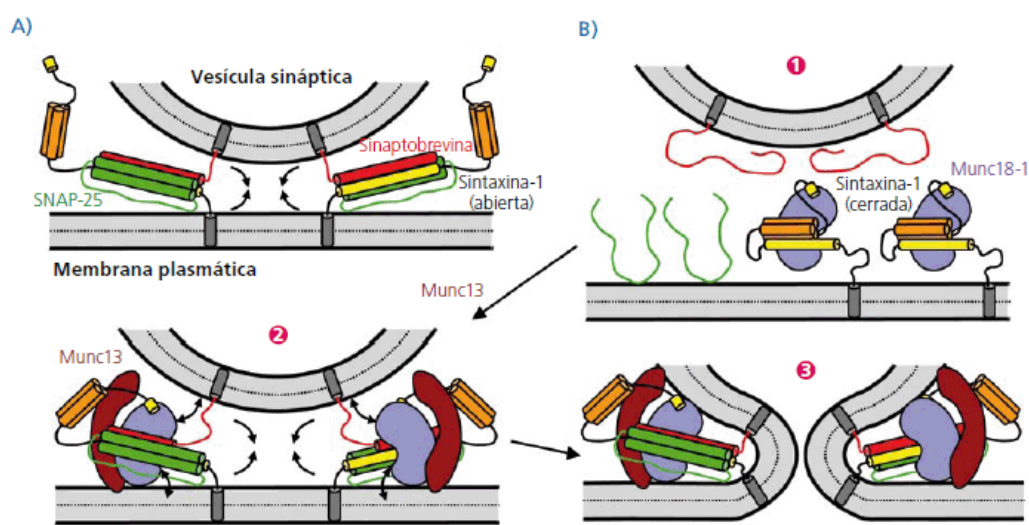


Figura 1: (A) La formación del complejo SNARE (sinaptobrevina en rojo; SNAP-25 en verde; sintaxina en amarillo y el dominio N-terminal en naranja) aproxima la vesícula sináptica a la membrana plasmática. (B) Secuencia de fusión entre membranas. Estado 1: la sintaxina está inicialmente cerrada y ligada a Munc18 (violeta). Estado 2: Munc13 (marrón) abre la sintaxina y orquesta la formación del complejo SNARE junto con Munc18. Estado 3: fusión. El modelo postula que, mientras Munc18 y Munc13 impiden que las membranas se acerquen demasiado, la finalización de la formación del complejo SNARE atrae a las dos membranas en el centro; esta combinación de fuerzas (ilustrada por las flechas en el estado 2) ayuda a que las membranas se deformen para fusionarlas (estado 3). Figura pública en la web <https://www.sebbm.es/revista/articulo.php?id=74&url=sinapsis-maquinarias-moleculares-para-la-comunicacion-neuronal>

1.1.4. Encefalopatía STXBP-1.

- **Sintomatología.**

El síndrome STXBP1 está considerado como una alteración genética que tiene importantes implicaciones en el neurodesarrollo (Murillo, 2019). Los pacientes que presentan mutaciones en el gen STXBP1 tienen tres anomalías fenotípicas principales: discapacidad intelectual (DI), epilepsia y trastornos del movimiento (Uddin *et al.*, 2017).

La epilepsia, cuando aparece en personas que padecen el síndrome STXBP1, se manifiesta de forma muy temprana. Normalmente, la edad de inicio es una media de 6 semanas y se extiende a un período que puede durar hasta 12-13 años (Murillo, 2019). Las convulsiones son la segunda característica clínica más común en la encefalopatía STXBP1 con epilepsia, aunque hay un porcentaje de pacientes que no las presentan. De entre los tipos de crisis se encuentran: espasmos infantiles y tónico-clónicos generalizados; clónicos generalizados; tónicos generalizados; mioclónicos; atónicos; y crisis de ausencia (Khaikin y Mercimek-Mahmutoglu, 2016).

Además, y después de la infancia, la mayoría de personas que padecen el síndrome STXBP1 presentan características neurológicas adicionales además de la ID y la epilepsia. Existen algunos casos donde personas con cierta edad padecen una progresión de los síntomas neurológicos con la aparición de características extrapiramidales que recuerdan el parkinsonismo de inicio temprano (Lanove et al., 2019; Stamberger et al., 2016).

Por otro lado, han aparecido descripciones de personas con mutaciones en STXBP1 que no manifiestan epilepsia en ningún momento, pero sí discapacidad intelectual sin epilepsia o trastorno del espectro autista (TEA). Al principio de las investigaciones sobre el síndrome STXBP1 se consideraba la mutación en este gen como uno de los principales causantes de encefalopatía epiléptica precoz. Sin embargo, se ha puesto de manifiesto que la epilepsia es solo uno de los múltiples y variables síntomas que se expresan en esta enfermedad. Por lo tanto, algunos estudios sugieren que no se trata de una encefalopatía epiléptica, sino de un trastorno del neurodesarrollo más complejo, donde tanto la discapacidad intelectual como la epilepsia juegan un papel sinérgico en la evolución del fenotipo (Cogliati *et al.*, 2019; Murillo, 2019; Stamberger *et al.*, 2016; Uddin *et al.*, 2017).

Junto a las anomalías fenotípicas principales y, según el paciente, pueden también detectarse alteraciones en el sueño, espasmos, mioclonía, disfunciones cardíacas, trastornos de espectro autista y esquizofrenia, alteraciones del movimiento, como ataxia y temblor, retraso del lenguaje y síntomas conductuales como hiperactividad y estereotipias, entre otras. A la coexistencia de dos o más enfermedades en un mismo individuo se le denomina comorbilidad. En este sentido, si nos basamos en los síntomas como principales características, podríamos hablar de STXBP1-E sindrómica (anteponemos el fenotipo). Sin embargo, en el caso en el que principalmente nos basemos en el genotipo, y en las características moleculares subyacentes a la enfermedad, estaríamos hablando de STXBP1-E molecular (O'Brien *et al.*, 2019).

Junto a la variabilidad genotípica y fenotípica que se puede detectar en cada paciente, hay que añadir la diferente respuesta que presentan al tratamiento. Todo ello hace que, aun pudiendo considerarse la STXBP1-E como una alteración monogénica, su estudio deba abordarse considerando a la misma como una enfermedad de elevada complejidad clínica y molecular. Resulta de suma importancia comprender el proceso patológico para mejorar las terapias, ya que los medicamentos antiepilépticos existentes presentan un éxito limitado en el control de las crisis en EIEE4 y no existe un enfoque de medicación de precisión para las otras características neurológicas del trastorno (Lanove *et al.*, 2019).

Podemos decir que es un difícil y apasionante reto encontrar las relaciones genotipo/fenotipo/tratamiento que nos lleven a paliar las alteraciones propias de cada individuo y, con ello, mejorar su calidad de vida.

- **Etiología.**

Las encefalopatías STXBP1 son causadas por mutaciones o microdeleciones heterocigóticas de *novi*, que abarcan desde deleciones completas del gen hasta mutaciones de un solo nucleótido que se producen en toda la longitud del gen. Estas mutaciones se encuentran entre las causas más frecuentes de encefalopatías epilépticas genéticas (Helbig y Abou, 2016; Lammertse *et al.*, 2019; Stamberger *et al.*, 2017).

Ocasionalmente se ha detectado mosaicismo de la línea germinal con recurrencia en los hermanos. Pocos son los estudios que han informado sobre la frecuencia de mosaicismo somático en padres de niños con encefalopatías epilépticas severas, pero se ha observado que puede existir mosaicismo parental para el gen STXBP1. Es por ello que la realización de una prueba de mosaicismo en los padres puede contribuir a un asesoramiento genético mucho más completo para las familias. Hasta ahora no se ha podido proporcionar correlaciones fenotípicas-genotípicas claras (Lanove *et al.*, 2019; Møller *et al.*, 2019).

De todas las mutaciones que se dan en STXBP1, la mayoría son de *novi* y truncantes. Estas últimas abarcan mutaciones sin sentido, mutaciones en el sitio de empalme, de desplazamiento del marco de lectura, deleciones parciales y complejas, y microdeleciones. Existen mutaciones recurrentes como p.Arg551Cys, p.Arg292Cys, p.Arg292His y p.Arg406His. Esta última es la más frecuente y está relacionada con la aparición de epilepsia a los dos meses y medio de vida, así como una discapacidad intelectual severa. El resto de las mutaciones recurrentes varían mucho más en su fenotipo. Otra variante recurrente y destacable es c.539G> A; p.Cys180Tyr, que se encuentran en el núcleo hidrofóbico de la proteína. Se piensa que desestabiliza la estructura secundaria de STXBP1 disminuyendo su termoestabilidad y, por lo tanto, la exocitosis vesicular (Lanove *et al.*, 2019; Møller *et al.*, 2019).

Por otro lado, se ha observado que las mutaciones sin sentido generan una alteración del desarrollo cognitivo más severa que las mutaciones truncantes. La estabilidad de la proteína de las variantes sin sentido patogénicas de STXBP1 está reducida en comparación con la proteína STXBP1 normal. Esto lleva a pensar que el mecanismo de patogenicidad para las variantes sin sentido en STXBP1 es la haploinsuficiencia a través de la desestabilización del estado plegado nativo de la proteína, lo que la hace propensa al plegamiento, agregación y degradación (Lanove *et al.*, 2019; Møller *et al.*, 2019).

Otra de las hipótesis es que la pérdida de función de STXBP1 es el mecanismo patológico, ya que muchas de las mutaciones que se predicen causan una desintegración del ARNm y, por lo tanto, haploinsuficiencia (Stamberger *et al.*, 2017). Múltiples líneas de evidencia apoyan la hipótesis de que la haploinsuficiencia es el principal mecanismo patogénico que subyace a la encefalopatía STXBP1, lo que puede explicar la falta de una correlación genotipo-fenotipo (Lammertse *et al.*, 2019).

En un modelo de ratón knockout para STXBP1, se ha demostrado que si se interrumpe totalmente el gen STXBP1 se genera en una pérdida completa de la secreción de neurotransmisores de las vesículas sinápticas, además de neurodegeneración. Los ratones knockout homocigotos han demostrado que la falta de expresión de STXBP1 inhibe los eventos presinápticos que conducen a la degeneración sináptica, aunque el ensamblaje cerebral es normal (Khaikin y Mercimek-Mahmutoglu, 2016). Por el contrario, los modelos de ratones STXBP1 heterocigotos muestran una disminución en la expresión y la estabilidad de las proteínas, pero estructuralmente la sinaptogénesis es normal (Stamberger *et al.*, 2016).

Los resultados anteriores indican que la secreción del neurotransmisor, y por lo tanto la STXBP1 funcional, es importante para el mantenimiento de las sinapsis neuronales. Sin embargo, existe controversia respecto a si la patología se deriva de una pérdida de la función STXBP1 o de una ganancia de la función patológica asociada con la agregación de proteínas mutadas con STXBP1. Todo apunta a que el mecanismo patológico es una pérdida de función que deriva en haploinsuficiencia, ya que las mutaciones de pérdida de función de STXBP1 conducen a grandes deficiencias en la fisiología sináptica. Además, experimentos *in vitro* sugieren que las mutaciones de STXBP1 conducen a una disminución de la estabilidad de la proteína y, en consecuencia, a la reducción de los niveles de proteína celular (Kovačević *et al.*, 2018; Lanove *et al.*, 2019; O'Brien *et al.*, 2019; Stamberger *et al.*, 2016).

1.1.5. Biología de sistemas.

La biología computacional se está convirtiendo cada vez más en una parte muy importante dentro de la biología. Implica esencialmente a la biología molecular, a la informática, a la

estadística y a la genética, que juegan un papel crucial en el análisis de la expresión y regulación de genes y proteínas (Al Mehdi *et al.*, 2019).

Es bien sabido que todos los organismos están compuestos por elementos estructurales y funcionales que interaccionan como redes dinámicas muy complejas. Hasta hace no mucho, la investigación científica se ha desarrollado desde una perspectiva principalmente reduccionista, sobre un único o pocos elementos, ya sean genes, proteínas o grupos celulares determinados. Sin embargo, la biología de sistemas plantea un enfoque holístico, que la define como un nuevo campo de estudio que pretende comprender la biología a nivel de sistema, lo que implica el análisis funcional de la estructura y la dinámica de las células y los organismos en su conjunto, además de ser una disciplina encargada de la integración y el análisis de datos biológicos a distintos niveles utilizando métodos computacionales. Dicho de otro modo, la biología de sistemas se basa en la integración de mediciones multidimensionales a través del uso de múltiples plataformas de alto rendimiento, esquemas y campos de estudio para intentar integrar redes biológicas de un sistema e identificar las posibles condiciones que pueden alterar su equilibrio funcional (Diaz-Beltrán *et al.*, 2013; Vargas *et al.*, 2018).

Gracias a los numerosos trabajos realizados en investigación sobre expresión génica, podemos contar con una amplia variedad de bases de datos que resultan de gran utilidad para la biología de sistemas, ya que junto con los avances en tecnología y técnicas experimentales, puede considerarse una herramienta de investigación que utiliza métodos biológicos, químicos, estadísticos, físicos, matemáticos y computacionales para integrar y analizar información molecular, fisiológica y clínica extraída de experimentos de laboratorio (Diaz-Beltrán *et al.*, 2013).

Para contribuir a solucionar la situación que se presenta al estudiar el Síndrome STXBP1, hemos llevado a cabo un análisis computacional de relaciones genotipo/fenotipo basado en la Biomedicina de Sistemas, es decir, mediante la integración y el análisis de datos masivos, clínicos y moleculares, a distintos niveles utilizando principalmente métodos computacionales. Para ello, accedemos a la información biomédica y genómica pública disponible, como por ejemplo la incorporada en la plataforma ClinVar de la NBCI (ncbi.nlm.nih.gov/clinvar) sobre variantes clínicas, y el catálogo online de genes humanos ExAC (exac.broadinstitute.org), el cual incluye a 60,706 individuos secuenciados como parte de diferentes estudios tanto en enfermedades específicas como genéticos poblacionales.

1.2. Justificación del trabajo.

En definitiva, por todo lo anteriormente comentado, la situación en la que nos encontramos a la hora de estudiar el síndrome STXBP1 puede ser resumida en los siguientes puntos:

- (i) El diagnóstico del síndrome STXBP1 está muy poco desarrollado.
- (ii) Los diferentes tipos de mutaciones encontradas (genotipo) aún no están bien correlacionadas con las manifestaciones clínicas de cada individuo (fenotipo).
- (iii) Diferentes pacientes con una misma mutación pueden mostrar variabilidad en los síntomas o en el grado de afectación.
- (iv) Individuos con una sintomatología similar pueden ser portadores de un tipo diferente de mutación.
- (v) Junto a la variabilidad genotípica y fenotípica de cada paciente hay que añadir la diferente respuesta al tratamiento.

Como resultado, todo esto conlleva a la falta de un correcto consejo genético y asistencia a los padres, a su alarma y a un retraso sustancial en la correcta aplicación de tratamientos adecuados, lo que repercute gravemente en el pronóstico de estos pacientes de edad muy temprana.

Para contribuir a mejorar su calidad de vida, tomamos como punto de partida este Trabajo de Fin de Máster, con el fin de comenzar a estudiar las posibles relaciones genotipo/fenotipo/tratamiento que nos lleven a paliar las alteraciones propias de cada paciente.

1.3. Hipótesis.

La hipótesis que planteamos en este Trabajo de Fin de Máster es que quizás exista una correlación entre el genotipo y el fenotipo que presentan los pacientes con síndrome STXBP1, y que las comorbilidades asociadas pueden, además, proporcionar información en este sentido.

2. OBJETIVOS.

El principal objetivo de este Trabajo de Fin de Máster es contribuir al estudio de la relación entre la STXBP1-E sindrómica y la STXBP1-E molecular, partiendo de la poca información genética y funcional hasta ahora existente del gen STXBP1. Por otro lado, también se pretende estudiar las diferentes comorbilidades que se presentan en pacientes diagnosticados con STXBP1 y, con ello, establecer su prevalencia y las posibles bases moleculares subyacentes.

Además, se persigue integrar algunos de los conocimientos adquiridos en varias asignaturas cursadas a lo largo del Grado y del Máster, tanto por la metodología que se ha utilizado para la realización de este trabajo como en la interpretación de los datos obtenidos.

3. MATERIAL Y MÉTODOS.

3.1. Construcción de redes de asociación.

Con el objetivo construir la redes de asociación entre el gen STXBP1, sus variantes genéticas y las manifestaciones clínicas, se utiliza la aplicación *DisGeNET* (<http://www.disgenet.org/>) lanzada sobre *Cytoscape* (<http://www.cytoscape.org>).

DisGeNET integra y estandariza datos sobre genes y variantes asociados a enfermedades proveniente de múltiples fuentes, incluida la literatura científica, y abarca numerosas enfermedades humanas. Concretamente, la versión actual cubre más de 24000 enfermedades y rasgos, 17000 genes y 117000 variantes genómicas. La base de datos de DisGeNET se estructura en la asociación de genes y enfermedades (GDA) y en la asociación de variante de enfermedad (VDA), las cuales se recogen a partir de diferentes fuentes de datos (Piñero *et al.*, 2019).

Por un lado, para construir la red de asociación entre el gen STXBP1 y enfermedad, seleccionamos la opción “Gene Disease Network”, buscamos STXBP1 como gen y creamos la red. Para que sea posible diferenciar los distintos desórdenes por clases, la aplicación DisGeNET permite establecer un código de color en función de la clase de enfermedad. Este código sigue las directrices de clasificación de las enfermedades según los términos médicos MeSH. Para que los nodos de la red de asociación generada presenten uno o varios colores según el tipo de enfermedad, seleccionamos la opción “colour nodes with disease class” que nos ofrece esta aplicación.

Por otro lado, para la construcción de la red de asociación entre variantes genéticas de STXBP1 y enfermedad seleccionamos la opción “Variant Disease Network”, buscamos STXBP1 como gen y creamos la red.

3.2. Obtención de las variantes genéticas al gen STXBP1.

Para tener un mayor conocimiento sobre la información disponible del gen STXBP1, se ha realizado una búsqueda del número y la relación fenotípica de las variantes genéticas asociadas a STXBP1. Para ello utilizamos *Simple ClinVar* (<http://simple-clinvar.broadinstitute.org>), una aplicación de servidor web que proporciona estadísticas resumidas de variantes, genes y niveles de enfermedades basadas en la base de datos *ClinVar*. SE permite una extracción y un filtrado de las entradas de *ClinVar* junto con una visualización gráfica de una forma fácil y dinámica de usar (Pérez-Palma *et al.*, 2019). Al introducir el término STXBP1 como gen, obtenemos la información sobre el número total de

variantes, su clasificación según tipo de variante genética, el tipo de consecuencia molecular y su significado clínico.

Por otro lado, continuamos el análisis tratando de detectar los diferentes fenotipos asociados a las variantes del gen STXBP1. Simple *ClinVar* nos proporciona una tabla con los fenotipos asociados a las variantes encontradas y su frecuencia.

3.3. Detección de frecuencias alélicas en población normal.

Con el fin de conocer los datos de referencia de frecuencias alélicas en población normal, del gen STXBP1, se utilizó la base de datos de agregación del genoma *gnomAD* (<https://gnomad.broadinstitute.org/>). El valor de restricción que se muestra en gnomAD es la relación entre número observado y el esperado (oe) de variantes de pérdida de función en el gen de estudio (STXBP1 en nuestro caso). Los recuentos esperados se basan en un modelo mutacional que tiene en cuenta el contexto de secuencia, la cobertura y la metilación. El valor “oe” es una medida continua de cuán tolerante es un gen a una cierta clase de variación (por ejemplo, pérdida de función). Debido a que los recuentos dependen del tamaño del gen y del tamaño de la muestra, la precisión de los oe-valores varía mucho de un gen a otro. Por lo tanto, además del oe-valor, también se muestra un intervalo de confianza (IC) del 90% para cada uno de los oe-valores. Concretamente, esta plataforma ofrece, para la variación sinónima y sin sentido, una puntuación Z firmada de la desviación de los recuentos observados del número esperado. Las puntuaciones Z positivas indican una mayor restricción (intolerancia a la variación) y, por lo tanto, que la transcripción tiene menos variantes de lo esperado. Las puntuaciones Z negativas indican que transcripciones presentan más variantes de lo esperado.

3.4. Identificación de los tipos de EIEE y sus genes asociados.

Consideramos de importancia conocer cuántos tipos de EIEE están actualmente contemplados y los genes asociados. Con este propósito, hemos utilizado el catálogo online de genes humanos y trastornos genéticos: *OMIM* (<https://www.omim.org/help/faq>), que es actualizado con regularidad y recoge tanto genes humanos como trastornos y rasgos genéticos. Cabe destacar que establece una asociación en la relación molecular entre la variación genética y la expresión fenotípica.

3.5. Análisis de enriquecimiento funcional.

Tras obtener los genes asociados a los distintos tipos de EIEE, a partir de la plataforma OMIM (<https://www.omim.org/>), procedemos a realizar un análisis de enriquecimiento funcional. Este análisis es una parte esencial para la interpretación de listas de genes. Para ello utilizamos la plataforma computacional *g:Profiler* (<http://biit.cs.ut.ee/gprofiler/>), que caracteriza y manipula lista de genes resultantes de la extracción de datos genómicos de alto rendimiento (Reimand *et al.*, 2016; Reimand *et al.*, 2007).

Introducimos la lista de genes obtenida anteriormente y seleccionamos *g:GOS*, una de las herramientas que nos ofrece este servidor. Dicha herramienta realiza análisis de enriquecimiento estadístico y perfiles funcionales de listas de genes utilizando varios tipos de evidencia biológica. Los resultados del análisis de enriquecimiento se muestran en un diagrama interactivo de Manhattan, donde en el eje X se presentan los términos funcionales agrupados por fuentes de datos y, en el eje Y, se muestran los p-valores de enriquecimiento ajustados a la escala $-\log_{10}$.

Al presentar este tipo de datos un gran número de hipótesis alternativas, existe una mayor probabilidad de obtener resultados con falsos positivos significativos. Para ello, esta plataforma computacional nos ofrece un algoritmo propio llamado *g:SCS*. Se trata de una corrección de pruebas múltiples que presenta un mejor umbral entre significativos y no significativos que las correcciones de pruebas convencionales como FDR y Bonferroni.

Además, también nos permite conocer los fenotipos humanos asociados a los genes de interés, entre otra información.

3.6. Comorbilidades.

Una vez obtenida toda la información sobre el gen STXBP1 y sus variantes, nos propusimos conocer las posibles enfermedades comórbidas al síndrome STXBP1. La asociación *Simons Serchlight* realizó un estudio a 38 niños con síndrome STXBP1 en el que propusieron una clasificación de los diagnósticos comunes del desarrollo y el comportamiento, junto a su prevalencia. Utilizamos este listado de comorbilidades, al que añadimos la prevalencia mundial en niños que se pueda extraer de la bibliografía. Por otro lado, se obtuvieron los términos *MeSH* (Medical Subject Headings) de aquellas comorbilidades incluidas en la base de datos *MeSH* del NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh>). Una vez obtenidos los términos *MeSH*, se procedió a obtener la lista de genes que se han descrito como asociados a cada uno de ellos. Para ello utilizamos la plataforma *Phenopedia*

(<https://phgkb.cdc.gov/PHGKB/startPagePhenoPedia.action>), la cual proporciona una visión centrada en la enfermedad a partir de estudios de asociación genética (Yu *et al.*, 2010).

Además, para evaluar la independencia entre los datos de prevalencia mundial y los datos de prevalencia obtenidos del estudio realizado por la asociación *Simons Serchlight*, utilizamos la prueba de chi-cuadrado con la corrección de Yates.

3.7. Análisis de agrupamiento.

Con el objetivo de conocer la posible relación entre estas enfermedades según su perfil génico, llevamos a cabo un análisis de agrupamiento (*Cluster*). De este modo se generó una distribución del conjunto de comorbilidades en asociaciones de elementos según su similitud genética.

Para ello se construyó una matriz binaria utilizando el software en R, con el objetivo de reunir la presencia/ausencia de cada gen en cada enfermedad. A continuación, se obtuvo una matriz de distancia, que posteriormente fue utilizada para realizar un análisis de agrupamiento jerárquico. Finalmente generamos un dendrograma donde se muestra gráficamente la relación entre las distintas comorbilidades.

Como medida para comparar la similitud y la diversidad de los conjuntos de estudio se utilizó el índice de Jaccard. Este índice se define como el tamaño de la intersección dividido por el tamaño de la unión de los conjuntos. Únicamente tiene en cuenta las presencias y no las ausencias, es decir, establece similitudes sobre la base de los genes presentes en las enfermedades (Vargas *et al.*, 2020).

3.8. Redes de interacción a partir de los genes comunes por cluster.

Con el objetivo de construir redes de interacción generadas a partir de los genes comunes para cada grupo, utilizamos la aplicación *GeneMANIA* (<https://genemania.org/>) lanzada sobre *Cytoscape* (<http://www.cytoscape.org>). Dicha aplicación permite construir una red compuesta a partir de un listado de genes dado, de modo que cada nodo representa un gen o sus productos génicos. Además, genera la interacción con otros genes (o productos génicos) que están más relacionados con los genes principales objeto de estudio. *GeneMANIA* proporciona una puntuación que indica la relevancia de cada gen en la lista original basada en las redes analizadas. Las puntuaciones (scores) con valores más altos indican qué genes que tienen una mayor probabilidad de estar funcionalmente relacionados. *GeneMANIA* utiliza una base de datos de redes ponderadas específicas del organismo deseado para construir la red compuesta resultante. Para generar la red se introducen los nombres de los genes comunes

de cada uno de los clusters y se seleccionan los organismos en los que se quieren estudiar, en este caso *Homo sapiens* (Montejo *et al.*, 2014).

3.9. Visualización de intersecciones mediante diagramas de Venn.

Para lograr visualizar de una manera esquemática qué genes se encuentran compartidos entre las listas de genes que componen cada una de las redes de interacción se construyó un diagrama de Venn. Este tipo de diagramas constan de dos o más figuras en las que cada una representa a un conjunto de datos y la superposición entre ellas corresponde a la intersección entre conjuntos. En biología se utilizan ampliamente para mostrar las diferencias entre las listas de genes procedentes de diferentes análisis. El uso de formas geométricas simples reduce la complejidad y el tamaño de la figura en relación con las tablas, lo que facilita su interpretación.

Jvenn (<http://jvenn.toulouse.inra.fr/app/example.html>) es una nueva biblioteca de JavaScript que procesa listas y produce diagramas de Venn. Con esta aplicación se puede manejar hasta seis listas de entrada y presenta resultados usando diseños clásicos o de Edwards-Venn (Chen y Boutros, 2011; Hulsen *et al.*, 2008; Bardou *et al.*, 2014).

4. RESULTADOS.

4.1. Construcción de la red de asociación entre el gen STXBP1 y enfermedad.

En primer lugar se obtuvo, con la aplicación *DisGeNET* lanzada sobre plataforma *Cytoscape*, la red de asociación entre el gen STXBP1 y las diferentes enfermedades con las que está asociado (Figura 2). Como se puede observar en la red, se han encontrado 18 desórdenes de 5 clases diferentes asociados al gen STXBP1. Además, se muestran dos tipos de relaciones entre el gen y los distintos desórdenes: variación genética o biomarcador. Cabe destacar que el desorden con el que el gen STXBP1 tiene mayor número de relaciones es la encefalopatía epiléptica infantil temprana tipo 4.

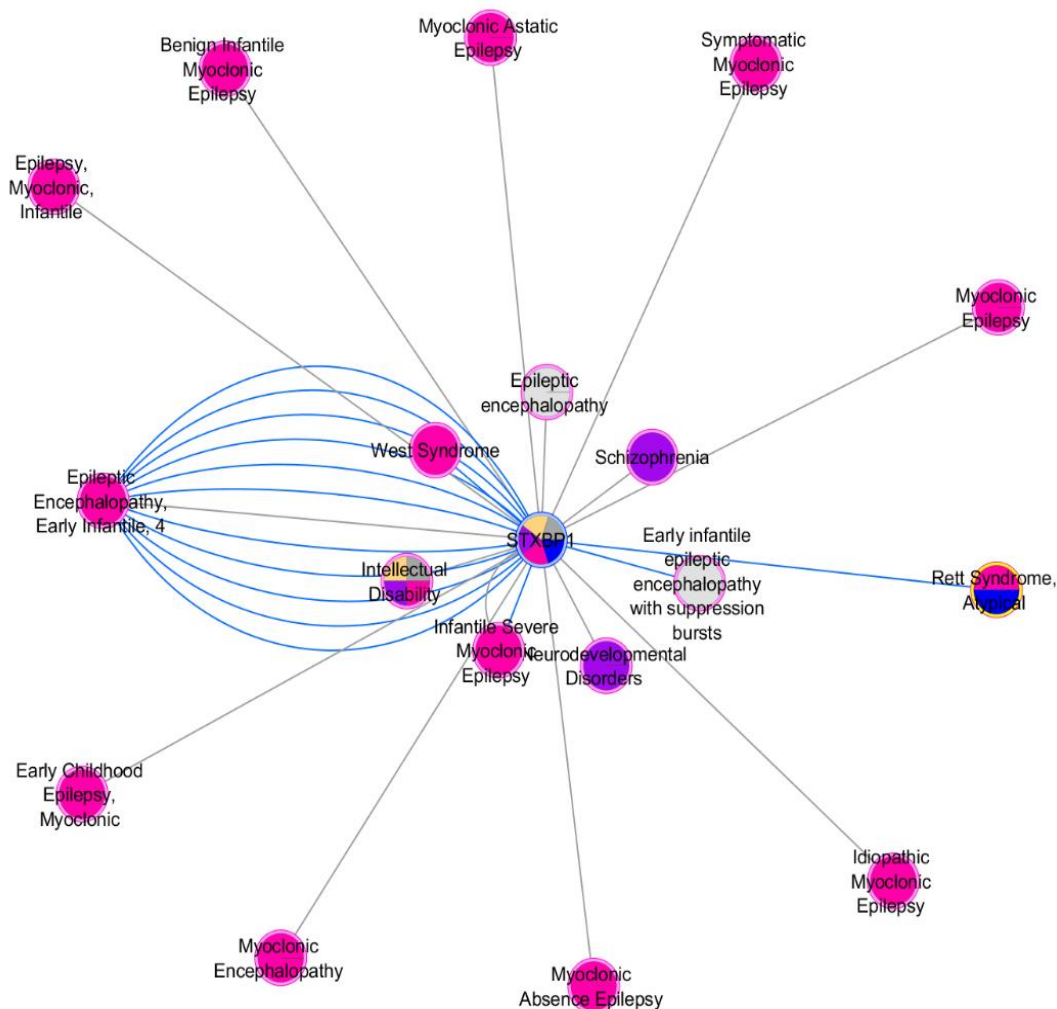


Figura 2: Red de asociación entre el gen STXBP1 y fenotipos. Códigos de color: enfermedad del sistema nervioso (rosa); enfermedad mental (morado); enfermedades o alteraciones congénitas, neonatales y hereditarias (azul); síntomas, signos y condiciones patológicas (gris); y comportamiento y mecanismos del comportamiento (amarillo). Relaciones entre nodos: variación genética (línea azul) y biomarcador (línea gris).

4.2. Construcción de la red de asociación entre variantes genéticas de STXBP1 y enfermedad.

Con el objetivo de conocer la asociación existente entre las variantes genéticas de STXBP1 y los diferentes fenotipos se procedió a la generación de una red de asociación mediante la aplicación *DisGeNET* lanzada sobre *Cytoscape* (Figura 3). Como se puede observar en la red, se han encontrado 36 variantes relacionadas con 11 alteraciones o enfermedades.

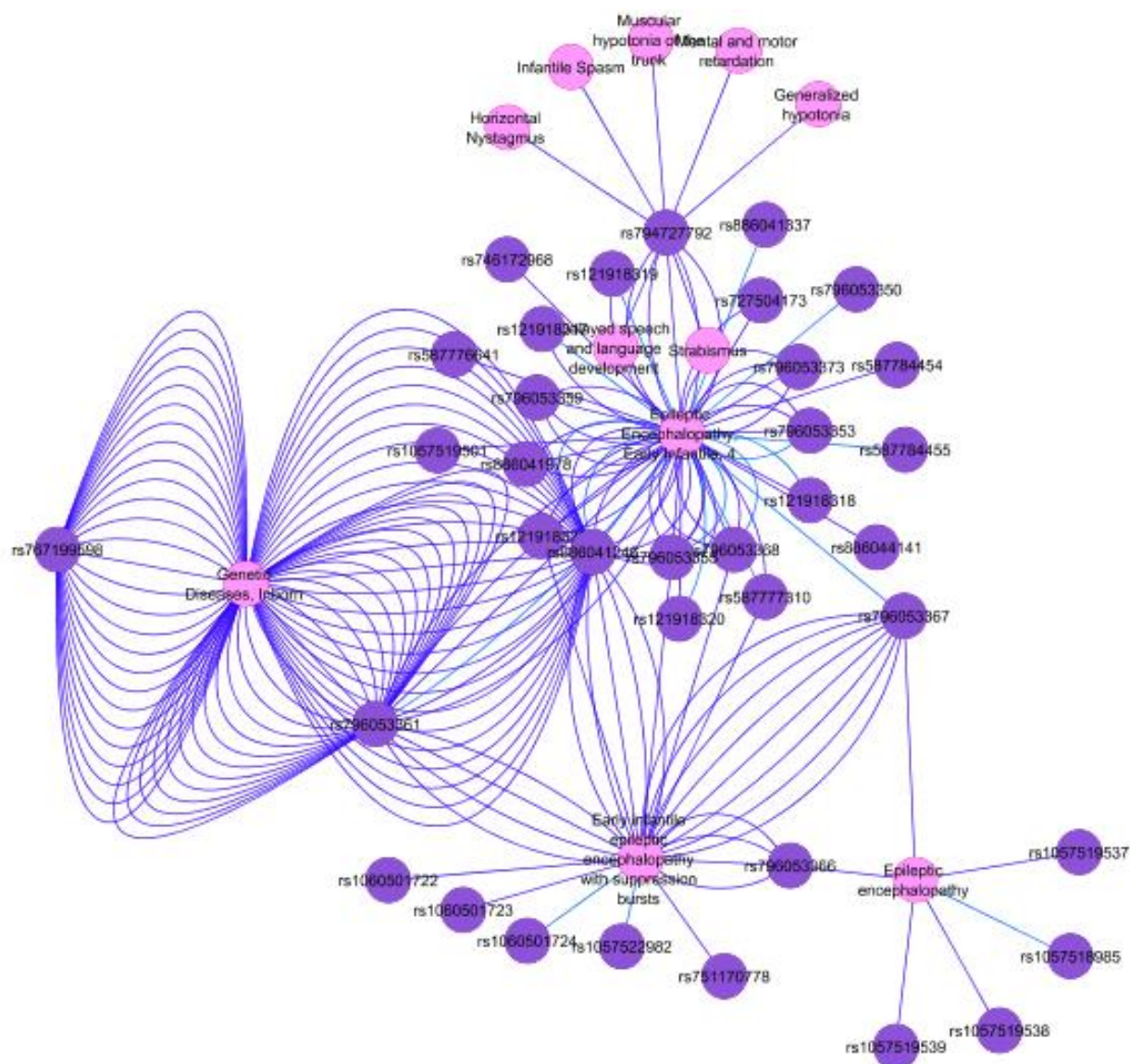


Figura 3: Red de asociación entre variantes genéticas de STXBP1 y fenotipos. Códigos de color: variantes (morado) y alteraciones (rosa).

4.3. Variantes génicas de STXBP1.

Con el objetivo de conocer de una forma más detallada el número de variantes génicas asociadas al gen STXBP1, y su clasificación, utilizamos la plataforma *Simple ClinVar*. En ella se han encontrado un total de 416 variantes asociadas a este gen, que se clasifican según el tipo de variante genética, la consecuencia molecular y su significación clínica (Figura 4).

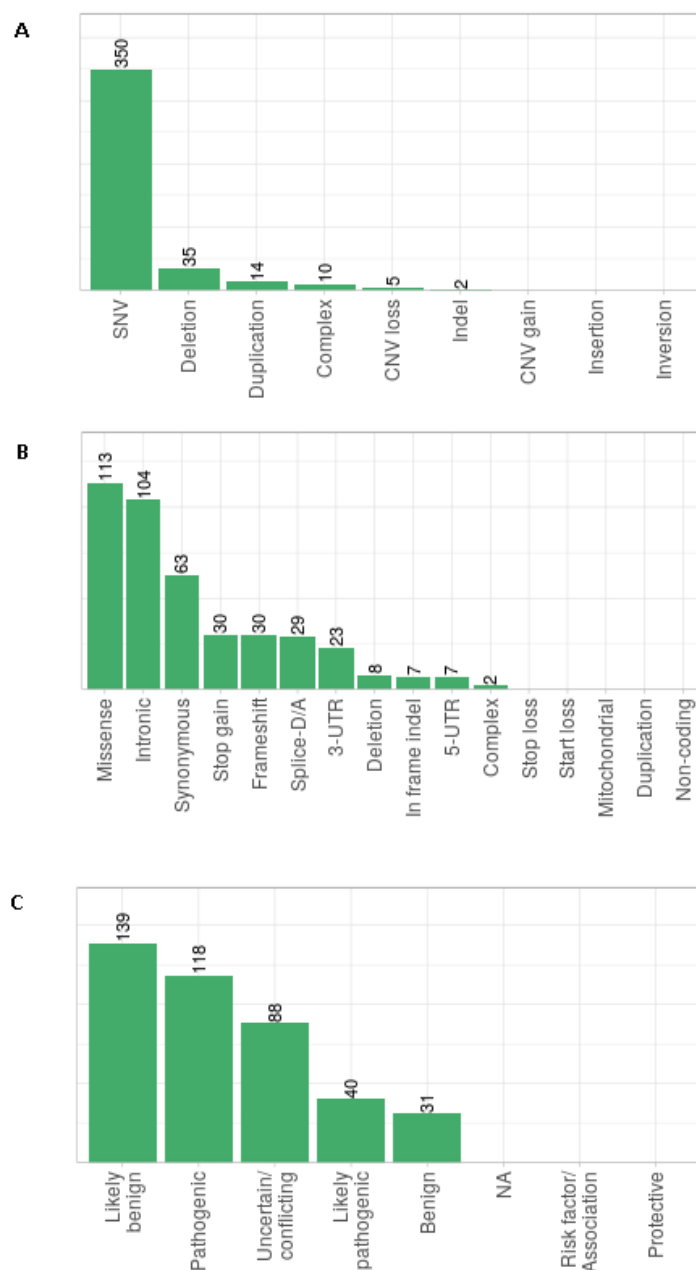


Figura 4: A) Clasificación de las variantes asociadas al gen STXBP1 según el tipo de variante genética. B) Clasificación de las variantes asociadas al gen STXBP1 según el tipo de consecuencia molecular. C) Clasificación de las variantes asociadas al gen STXBP1 según el tipo de significado clínico.

El tipo de variante genética que aparece con mayor frecuencia son las variantes de un solo nucleótido (SNV). Con respecto a las consecuencias debidas a las diferentes variantes encontradas, las variantes *missense*, intrónicas y sinónimas son las que aparecen con mayor frecuencia, respectivamente. Además, el número de variantes con un significado clínico “Aparentemente benigno”, “Patogénico” y “No certero/conflictivo” resultan mayor que el resto.

- Fenotipos asociados

Con el fin de completar el análisis, a continuación se obtuvieron los fenotipos asociados a las diferentes variantes asociadas al gen STXBP1 descritas anteriormente. En la siguiente tabla (Tabla 1) se encuentran los 31 fenotipos asociados a las variantes y sus frecuencias.

Phenotype	Frequency	Phenotype	Frequency
Not provided/ not specified	319	Generalized hypotonia	1
Early infantile epileptic encephalopathy	62	Hand tremor	1
Early infantile epileptic encephalopathy 4	56	Horizontal nystagmus	1
Early Infantile Epileptic Encephalopathy, Autosomal Dominant	47	Infantile spasms	1
History of neurodevelopmental disorder	20	Intellectual disability, non syndromic	1
Inborn genetic diseases	13	Macrocephalus	1
Epileptic encephalopathy	7	Malignant tumor of prostate	1
See cases	4	Microcephaly	1
Intellectual disability	3	Muscular hypotonia of the trunk	1
Cerebellar vermis hypoplasia	2	Severe global developmental delay	1
Early onset epileptic encephalopathy	2	Severe intellectual deficiency	1
Global developmental delay	2	Spasticity	1
Seizures	2	Strabismus	1
Behavioral abnormality	1	STXBP1-associated neurodevelopmental disorder	1
Cerebellar ataxia	1	West syndrome	1
Delayed speech and language development	1		

Tabla 1: Fenotipos asociados a las diferentes variantes asociadas al gen STXBP1 y sus frecuencias obtenidos del servidor web *Simple ClinVar*.

4.4. Frecuencias alélicas en población normal.

De forma adicional, se utilizó la base de datos de agregación del genoma (*gnomAD*) con el fin de obtener datos de referencia de frecuencias alélicas. En ella se encuentran 924 variantes génicas asociadas al gen STXBP1 y, como se puede observar (Figura 5), la probabilidad de ser intolerante a la pérdida de función es extremadamente alta para STXBP1 ($pLI = 1$). Es por ello que se puede considerar que este gen pertenece a la categoría de genes 'haploinsuficientes' (Lammertse *et al.*, 2019).

Queda claro, que el gen STXBP1 tiene una frecuencia alélica muy baja en personas normales, lo que indica que cuando se produce una mutación en este gen da lugar a enfermedad o es letal.

Category	Exp. SNVs	Obs. SNVs	Constraint metrics
Synonymous	136.3	122	Z = 0.96 o/e = 0.9 (0.77 - 1.04)
Missense	352.1	127	Z = 4.26 o/e = 0.36 (0.31 - 0.42)
pLoF	34.7	0	pLI = 1 o/e = 0 (0 - 0.09)

Figura 5: Tabla de restricciones que muestra la probabilidad de ser intolerante a la pérdida de función (pLI) y la métrica observada/esperada (oe) para las variantes del gen STXBP1

4.5. Tipos de EIEE.

Es también importante conocer los diferentes tipos existentes de EIEE y los genes que están implicados principalmente en ellas. Así pues, se obtuvo una lista con los 84 tipos diferentes de EIEE y sus genes, obtenida de la base de datos de OMIM (Tabla 2).

Phenotype	Gene	Alternative Phenotype	Phenotype	Gene	Alternative Phenotype
EIEE1	ARX	Ohtahara	EIEE43	GABRB3	
EIEE2	CDKL5		EIEE44	UBA5	
EIEE3	SLC25A22		EIEE45	GABRB1	
EIEE4	STXBP1		EIEE46	GRIN2D	
EIEE5	SPTAN1		EIEE47	FGF12	
EIEE6	SCN1A	Dravet	EIEE48	AP3B2	
EIEE7	KCNQ2		EIEE49	DENND5A	
EIEE8	ARHGEF9		EIEE50	CAD	
EIEE9	PCDH19		EIEE51	MDH2	
EIEE10	PNKP		EIEE52	SCN1B	
EIEE11	SCN2A		EIEE53	SYNJ1	
EIEE12	PLCB1		EIEE54	HNRNPU	
EIEE13	SCN8A		EIEE55	PIGP	
EIEE14	KCNT1		EIEE56	YWHAG	
EIEE15	ST3GAL3		EIEE57	KCNT2	
EIEE16	TBC1D24		EIEE58	NTRK2	
EIEE17	GNAO1		EIEE59	GABBR2	
EIEE18	SZT2		EIEE60	CNPY3	

EIEE19	GABRA1		EIEE61	ADAM22	
EIEE20	PIGA		EIEE62	SCN3A	
EIEE21	NECAP1		EIEE63	CPLX1	
EIEE22	SLC35A2		EIEE64	RHOBTB2	
EIEE23	DOCK7		EIEE65	CYFIP2	
EIEE24	HCN1		EIEE66	PACS2	
EIEE25	SLC13A5		EIEE67	CUX2	
EIEE26	KCNB1		EIEE68	TRAK1	
EIEE27	GRIN2B		EIEE69	CACNA1E	
EIEE28	WWOX		EIEE70	PHACTR1	
EIEE29	AARS		EIEE71	GLS	
EIEE30	SIK1		EIEE72	NEUROD2	
EIEE31	DNM1		EIEE73	RNF13	
EIEE32	KCNA2		EIEE74	GABRG2	
EIEE33	EEF1A2		EIEE75	PARS2	
EIEE34	SLC12A5		EIEE76	ACTL6B	
EIEE35	ITPA		EIEE77	PIGQ	
EIEE36	ALG13		EIEE78	GABRA2	
EIEE37	FRRS1L		EIEE79	GABRA5	
EIEE38	ARV1		EIEE80	PIGB	
EIEE39	SLC25A12		EIEE81	DMXL2	
EIEE40	GUF1		EIEE82	GOT2	
EIEE41	SLC1A2		EIEE83	UGP2	
EIEE42	CACNA1A		EIEE84	UGDH	

Tabla 2: Diferentes tipos de EIEE según la base de datos de OMIM.

4.6. Análisis de enriquecimiento funcional.

Una vez obtenida la lista de genes implicados en todas las EIEE, resulta de interés conocer su enriquecimiento funcional. Para ello se utilizó la plataforma computacional *g:profiler*, donde se obtuvo el grado de significación estadística global del análisis de enriquecimiento funcional de los genes que están asociados principalmente a los 84 tipos de EIEE. Uno de los resultados que nos ofrece esta plataforma es un diagrama de Manhattan (Figura 6) que muestra los resultados globales del análisis enriquecimiento funcional de los genes principales asociados a los 84 tipos de EIEE.

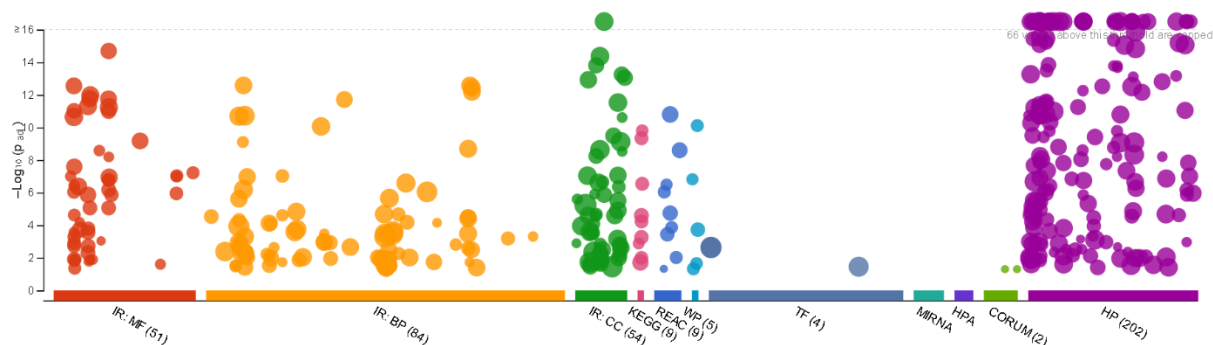


Figura 6: Diagrama de Manhattan con resultados globales del análisis de enriquecimiento funcional de los genes principales asociados a los 84 tipo de EIEE. Eje X (términos funcionales) y eje Y (calores p-valor de enriquecimiento ajustados a valores $\log_{10}$ negativos). Códigos de color: MF (función molecular; rojo), BP (proceso biológico; naranja), CC (componente celular; verde), CORUM (verde claro) y HP (Ontología del fenotipo Humao; morado). KEGG (rosa), REAC (reactoma; azul medio) y WP (WikiPtathways; azul claro) pertenecen a bases de datos de rutas biológicas. TF (transfac; azul oscuro) y MIRNA (mirTarBase; azul verdoso) pertenecen a motivos regulatorios en ADN.

Term name	Term id	Adjusted p value
Epileptic encephalopathy	HP:0200134	1,35E-91
Encephalopathy	HP:0001298	5,06E-68
Interictal epileptiform activity	HP:0011182	8,12E-53
EEG with generalized epileptiform discharges	HP:0011198	1,14E-51
Interictal EEG abnormality	HP:0025373	1,15E-51
Hypsarrhythmia	HP:0002521	1,00E-48
EEG abnormality	HP:0002353	1,49E-37
Developmental regression	HP:0002376	1,31E-36
Abnormality of central nervous system electrophysiology	HP:0030178	3,95E-36
Myoclonus	HP:0001336	8,56E-35
Abnormal nervous system electrophysiology	HP:0001311	7,85E-32
Status epilepticus	HP:0002133	5,52E-29
EEG with multifocal slow activity	HP:0010844	3,57E-24
Poor head control	HP:0002421	1,62E-22
Dyskinesia	HP:0100660	2,86E-22
EEG with abnormally slow frequencies	HP:0011203	7,96E-21
Abnormal myelination	HP:0012447	1,83E-17
Cerebral atrophy	HP:0002059	7,49E-17
Atrophy/Degeneration affecting the cerebrum	HP:0007369	1,42E-16

Tabla 3: Fenotipos altamente significativos asociados a los principales genes asociados a los distintos tipos de EIEE.

Debido a que uno de los objetivos de este trabajo es intentar discernir la correlación entre el fenotipo y el genotipo en el síndrome STXBP1 (EIEE-4), utilizamos la información de fenotipo

humano (HP) que proporciona esta plataforma, en el que se indican los principales fenotipos asociados a los genes de las diferentes EIEE. En concreto, encontramos 202 fenotipos en total (ANEXO II, Tabla 1). Teniendo en cuenta la corrección de pruebas múltiples realizada por el algoritmo g:SCS, obtenemos 19 fenotipos altamente significativos con un p-valor inferior a 10^{-16} (Tabla 3).

4.7. Comorbilidades.

Utilizamos como base la clasificación de los diagnósticos comunes del desarrollo y el comportamiento obtenida de un estudio realizado, por la asociación *Simons Serchlight*, a 38 niños que padecen el síndrome STXBP1. En ella se ve reflejada la prevalencia de las distintas Comorbilidades que afectan a los niños del estudio. Además, también se ha obtenido la prevalencia mundial de dichas enfermedades en niños, independientemente de si padecen el síndrome STXBP1 o no.

Según el código de color, en la mayoría de las comorbilidades estudiadas la prevalencia mundial es menor a la prevalencia obtenida en el estudio. En solo cinco comorbilidades se ha encontrado una prevalencia mundial mayor y en seis, la prevalencia es parecida. Sin embargo, no se ha encontrado una prevalencia mundial para algunas de estas comorbilidades debido a la falta de datos fiables (Tabla 4).

Por otro lado, se obtuvo el número de genes que, según *Phenopedia*, están implicados en cada una de las comorbilidades anteriores. Sin embargo, algunas de estas enfermedades no se encuentran incluidas en esta plataforma (Tabla 4).

Common Developmental and Behavioral Diagnoses (38 individuals)	Condition	Children (%)	Worldwide prevalence	Phenopedia
	Intellectual disability/developmental delay	90%	1,04%	
	Autism spectrum disorder	37%	0,13%	537
	Language disorder (without intellectual disability)	50%	?	123
	Minimally verbal	34%	?	
	Regression due to seizures (*regression and sensory processing may be underestimates; more families may report these issues over time)	5%	0,04% - 0,18%	
	Other learning disorder	8%		
	ADHD	3%	5,29% - 6%	425
	Sensory processing (without ASD*)	3%		

	Pica	3%	?	13
Neurological Issues	Condition	Chiildren (%)	Worldwide prevalence	Phenop edia
	Low muscle tone	85%	0,01%	23
	Movement disorder	62%	?	59
	Cerebral palsy	28%	0,2% - 0,3%	91
	High muscle tone	26%	?	
	Clumsy	23%	10%	
	Tics	10%	20%	107
	Large head size (macrocephaly)	8%	5%	
	Head injury/loss of consciousness	8%	0,05% - 0,3%/ 0,05% - 0,3%	72/ 65
	Small head size (microcephaly)	5%	0,0013% - 0,15%	69
	Cranial nerve disorder	3%	?	296
	Seizures	85%	?	363
Vision problems	Condition	Chiildren (%)	Worldwide prevalence	Phenop edia
	Cortical blindness	13%	2,40%	
	Astigmatism (irregularly shaped eye, causes blurred vision)	10%	14,90%	27
	Strabismus (crossed eyes)	10%	1,90%	1
	Nearsighted	8%	11,70%	222
	Farsighted	8%	4,60%	
	Nystagmus (repetitive eye mevements)	5%	0,15%	
	Ptosis (drooping upper eyelid)	3%	0,01%	11
	Other (not specified)	5%		
Gastrointestinal Issues	Condition	Chiildren (%)	Worldwide prevalence	Phenop edia
	Gastric reflux (heartburn)	59%	4,40%	113
	Constipation	41%	0,7% - 29,6%	114
	Diarrhea	13%	13,60%	1
	Other (not specified)	5%		
Infections	Condition	Chiildren (%)	Worldwide prevalence	Phenop edia
	Ear infections	64%	6,50%	86
	Requiring ear tubes	21%		
	Pneumonia	26%	1,40%	221
	Urinary tract infection	13%	0,70%	67
Lung Issues	Condition	Chiildren (%)	Worldwide prevalence	Phenop edia
	Chronic pneumonia	5%		
	Chronic bronchitis	3%	3,91%	25
	Chronic croup	3%	3%	1
	Recurrent upper respiratory infections	3%	6%	68
	Pulmonary arteriovenous malformation (affects blood flow between heart and lungs)	3%		

Heart Issues	Condition	Chiildren (%)	Worldwide prevalence	Phenop edia
	Hypertension (high blood pressure)	3%	0,79%	2429
	Congenital heart disease and atrial septal defect (hole in heart wall)	3%	0,91% and 0,07% - 0,2%	No se encuentr a el primero/ 52
	Sinus tachycardia (elevated heart rate)	3%		3
	Benign pulmonary fistula (abnormal connection between artery and vein in lungs)	3%		
Kidney, urinary and genital Issues	Condition	Chiildren (%)	Worldwide prevalence	Phenop edia
	Urinary reflux	3%	0,4% - 1,8%	
	Kidney stone	3%	?	47
	Hydronephrosis (excess fluid in kidney)	3%	0,17%	14
	Undescended testicles	8%	1% - 4,5%	93
Endocrine Issues	Condition	Chiildren (%)	Worldwide prevalence	Phenop edia
	Problems growing/gaining weight	18%	5%	
	Short stature	8%	0,025% - 0,01%	72
	Irregular period	5%	?	70
	Delayed puberty	3%		281
	Hypothyroidism	3%	0,03% - 0,06%	
Bone Abnormalities	Condition	Chiildren (%)	Worldwide prevalence	Phenop edia
	Scoliosis (curvature of spine)	10%	2% - 3%	149
	Osteoporosis (low bone density)	5%		1087
	Osteopenia (low bone density)	3%		769
	Different leg length	3%		
	Plagiocephaly	3%	3,30%	
Skin Conditions	Condition	Chiildren (%)	Worldwide prevalence	Phenop edia
	Eczema	28%	15% - 20%	144
	Acne	8%	9,40%	51
	Keratosis pilaris (rough, bumpy skin)	8%	50% - 80%	
	Hemangioma (strawberry birthmark)	5%	1% - 10%	32
	Talanglectases (spider veins)	3%	0,001% - 0,0025%	34

Tabla 4: Clasificación de diagnósticos comunes del desarrollo y el comportamiento proporcionada por la asociación "Simons Searchlight". Código de color: rosa claro (la prevalencia en el estudio es mayor a la mundial), amarillo claro (prevalencia similar) verde claro (la prevalencia en el estudio es menor a la mundial). Las celdas en blanco hacen referencia a datos no encontrados. Signo (?): se tienen dudas en cuanto a los datos encontrados.

Para evaluar la independencia entre los datos de prevalencia, utilizamos la prueba de chi-cuadrado. Sin embargo, esta prueba solo se puede aplicar cuando los valores esperados son mayores de 5, para solventar este problema utilizamos la corrección de Yates. En las patologías que presentan un p-valor menor a 0.05, se puede decir que no existe relación entre

la prevalencia observada en el estudio de *Simons Serchlight* y la prevalencia mundial (Tabla 5).

	Chi-cuadrado	p-valor	Chi-cuadrado (corrección de Yates)	p-valor (corrección de Yates)
Intellectual disability/developmental delay	159,71	1,31E-36	156,14	< 2,2e-16
Low muscle tone	146,89	8,28E-34	144,33	< 2,2e-16
Nystagmus (repetitive eye mevements)	75,247	4,15E-18	72,6	< 2,2e-16
Ear infections	73,24	1,15E-17	69,931	< 2,2e-16
Keratosiis pilaris (rough, bumpy skin)	70,09	5,67E-17	67,652	< 2,2e-16
Gastric reflux (heartburn)	69,454	7,82E-17	66,347	3,78E-13
Autism spectrum disorder	44,996	1,97E-11	42,553	6,88E-11
Cerebral palsy	32,259	1,35E-08	29496	5,60E-05
Pneumonia	26,493	2,65E-07	23,554	1,22E-03
Urinary tract infection	13,77	0,00020666	10,006	0,00156
Problems growing/gaining weight	8,3026	0,0039588	7,0744	0,007819
Cortical blindness	8,6053	0,0033518	6,4837	0,01089
Short stature	8,2517	0,0040713	6,3286	0,01188
Head injury/loss of consciousness	8,2517	0,0040713	5,9286	0,0149
Clumsy	6,1332	0,013267	5,2259	0,02225
Strabismus (crossed eyes)	7,6992	0,0055244	4,5041	0,03381
Scoliosis (curvature of spine)	44,697	2,30E-11	3,6053	0,05759
Tics	3,9216	0,04767	3,1765	0,07471
Small head size (microcephaly)	5,0776	0,024237	3,1037	0,07811
Regression due to seizures	5,0776	0,024237	3,0389	0,08129
Constipation	16,437	5,03E-05	15,291	9,22E-02
Eczema	3,3333	0,067891	2,5677	0,1091
Undescended testicles	3,7273	0,053528	1,7757	0,1827
Talanglectases (spider veins)	3,0155	0,082474	1,3505	0,2452
Ptosis (drooping upper eyelid)	3,0155	0,082474	1,3358	0,2478
Hypothyroidism	2972,9	0	1,2483	0,2639
Hydronephrosis (excess fluid in kidney)	3,0155	0,082474	1,0734	0,3002
Astigmatism (irregularly shaped eye, causes blurred vision)	0,80452	0,36975	0,6977	0,4036
Congenital heart disease and atrial septal defect (hole in heart wall)	3,0155	0,082474	0,63342	0,4261
Farsighted	1,3765	0,2407	0,4879	0,4849
Recurrent upper respiratory infections	1,0471	0,30617	0,46539	0,4951
Nearsighted	0,55756	0,45524	0,4105	0,5217
Hypertension (high blood pressure)	3,0155	0,082474	0,39377	0,5303
Large head size (macrocephaly)	0,74044	0,38952	0,32908	0,5662
ADHD	0,54211	0,46156	0,32897	0,5663
Urinary reflux	1,0001	0,31728	0,2017	0,6534
Acne	0,075778	0,7831	0,010072	0,9201
Diarrhea	0,00075524	0,97808	1,1863E-26	1
Chronic bronchitis	0,00015623	0,99003	1,8266E-26	1
Chronic croup	0	1	0	1
Plagiocephaly	0,00015623	0,99003	4,7288E-25	1
Hemangioma (strawberry birthmark)	0,00026589	0,98699	0	1

Tabla 5: Prueba de chi-cuadrado para las comorbilidades estudiadas. Las patologías con sombreado en verde han presentado valores esperados superiores a 5, por lo que no se toman los valores obtenidos de la corrección de Yates.

4.7.1. Análisis de agrupamiento.

Con el objetivo de conocer la relación de proximidad entre las distintas comorbilidades mencionadas anteriormente, se llevó a cabo un análisis de agrupamiento del que se generó un dendograma basado en genes (Figura 7). Se detectaron un total de 11 grupos en el dendograma, siendo dos de ellos más independientes: “Tachycardia_Sinus” y “Esotropia”. Además, se obtuvo el valor del coeficiente de estabilidad de agrupamiento o coeficiente de Jaccard, donde los valores superiores a 0.65 indican que el agrupamiento no se ha producido al azar.

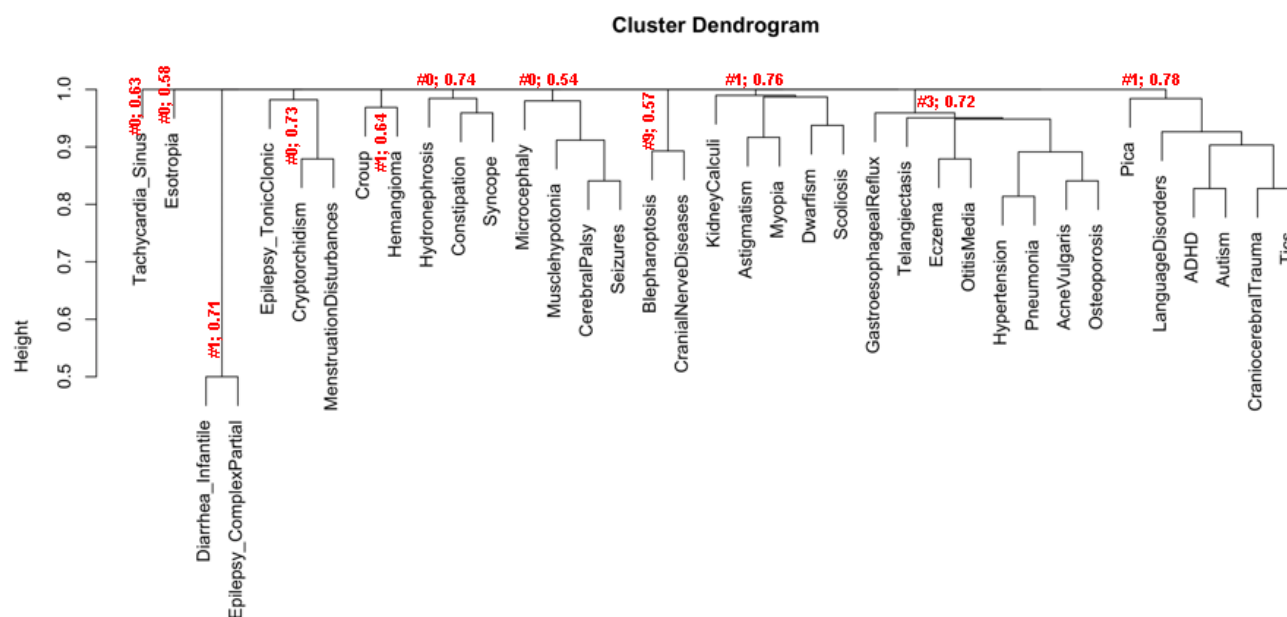


Figura 7: Dendograma basado en genes de las distintas comorbilidades encontradas en pacientes con síndrome STXBP1. Por cada cluster aparece #número de genes en común por cada cluster; valor del coeficiente de Jaccard.

Por otro lado, se obtuvo el número de genes en común entre las comorbilidades que forman cada cluster (Tabla 5). Se le dio un orden numérico a los grupos de izquierda a derecha según aparecen en el dendograma. Solo los clusters 3 (APOE), 5 (CD14), 8 (ATP6, ND1, ND6, OPA1, PAX6, POLG, C10orf2, RP2, TULP1), 9 (VDR), 10 (IL6, TNF, IL1B) y 11 (BDNF) presentaron genes en común.

4.7.2. Análisis funcional de los genes comunes por cluster.

Se llevó a cabo un análisis de enriquecimiento funcional para los genes comunes por grupo, mediante el uso de la plataforma computacional *g:Profiler*.

○ Cluster 8

Para el conjunto de genes comunes en este cluster (ATP6, ND1, ND6, OPA1, PAX6, POLG, C10orf2, RP2, TULP1) se obtuvieron los resultados globales del análisis enriquecimiento funcional con sus respectivos p-valores ajustados (FDR) (Figura 8).

source	term_name	FDR	source	term_name	FDR	source	term_name	FDR
GO:MF	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	0,02	HP	Abnormal glucose homeostasis	0,00	HP	Abnormal peripheral myelination	0,01
GO:MF	NADH dehydrogenase (quinone) activity	0,02	HP	Abnormal retinal artery morphology	0,00	HP	Gastroparesis	0,01
GO:MF	NADH dehydrogenase activity	0,02	HP	Centrocecal scotoma	0,00	HP	Bulbar signs	0,01
GO:MF	oxidoreductase activity, acting on NAD(P)H, quinone or similar compound as acceptor	0,03	HP	Mitochondrial myopathy	0,00	HP	Blurred vision	0,01
GO:BP	oxidative phosphorylation	0,02	HP	Abnormal circulating citrulline concentration	0,00	HP	Ophthalmoplegia	0,01
GO:BP	response to hyperoxia	0,03	HP	Abnormality of the optic disc	0,00	HP	Ventricular arrhythmia	0,01
GO:CC	mitochondrial protein complex	0,01	HP	Abnormality of retinal pigmentation	0,00	HP	Mitochondrial inheritance	0,01
KEGG	Oxidative phosphorylation	0,00	HP	Mask-like facies	0,00	HP	Blindness	0,01
KEGG	Parkinson disease	0,00	HP	Pigmentary retinopathy	0,00	HP	Abnormality of serum amino acid level	0,01
KEGG	Thermogenesis	0,01	HP	Abnormality of Krebs cycle metabolism	0,00	HP	Nystagmus	0,01
REAC	Respiratory electron transport, ATP synthesis by chemiosmotic coupling, and heat production by uncoupling proteins.	0,00	HP	Abnormality of head blood vessel	0,00	HP	Visual impairment	0,01
REAC	The citric acid (TCA) cycle and respiratory electron transport	0,01	HP	Rod-cone dystrophy	0,00	HP	Abnormal involuntary eye movements	0,01
REAC	Complex I biogenesis	0,04	HP	Sensorimotor neuropathy	0,00	HP	Decreased facial expression	0,02
WP	Oxidative phosphorylation	0,00	HP	Segmental peripheral demyelination/remyelination	0,00	HP	Retinal dystrophy	0,02
WP	Electron Transport Chain (OXPHOS system in mitochondria)	0,01	HP	Episodic respiratory distress	0,00	HP	Death in early adulthood	0,02
CORUM	Respiratory chain complex I (gamma subunit) mitochondrial	0,00	HP	Muscle abnormality related to mitochondrial dysfunction	0,00	HP	Abnormality of mitochondrial metabolism	0,02
CORUM	Respiratory chain complex I (holoenzyme), mitochondrial	0,04	HP	Retinal telangiectasia	0,00	HP	Focal T2 hyperintense basal ganglia lesion	0,02
HP	Glucose intolerance	0,00	HP	Mitochondrial respiratory chain defects	0,00	HP	Hyperthyroidism	0,02
HP	Hyperalaninemia	0,00	HP	Visual field defect	0,00	HP	Abnormal circulating carboxylic acid concentration	0,02
HP	Abnormal circulating pyruvate family amino acid concentration	0,00	HP	Diabetes mellitus	0,00	HP	Abnormal facial expression	0,03
HP	Abnormal circulating alanine concentration	0,00	HP	Abnormality of the optic nerve	0,00	HP	Action tremor	0,03
HP	Abnormal visual electrophysiology	0,00	HP	Abnormal speech prosody	0,00	HP	Abnormality of the vasculature of the eye	0,03
HP	Lacticaciduria	0,00	HP	Arterial tortuosity	0,00	HP	Retinal vascular tortuosity	0,03
HP	Demyelinating peripheral neuropathy	0,00	HP	Visual loss	0,00	HP	Dilated cardiomyopathy	0,03
HP	Ragged-red muscle fibers	0,00	HP	Vascular tortuosity	0,00	HP	Thyroiditis	0,03
HP	Low plasma citrulline	0,00	HP	Abnormal retinal vascular morphology	0,00	HP	Infantile spasms	0,03
HP	Multiple glomerular cysts	0,00	HP	Ventricular preexcitation	0,00	HP	Peripheral demyelination	0,03
HP	Congenital nystagmus	0,00	HP	Reduced visual acuity	0,00	HP	Central scotoma	0,03
HP	Ophthalmoparesis	0,00	HP	Episodic vomiting	0,01	HP	Abnormal basal ganglia MRI signal intensity	0,03
HP	Optic atrophy	0,00	HP	Slow decrease in visual acuity	0,01	HP	Hepatic failure	0,04
HP	Retinal arterial tortuosity	0,00	HP	Hyperventilation	0,01	HP	Abnormality of the mitochondrion	0,04
HP	Central retinal vessel vascular tortuosity	0,00	HP	Hypothermia	0,01	HP	Postural tremor	0,05
HP	Leber optic atrophy	0,00	HP	Abnormal retinal morphology	0,01	HP	Gait ataxia	0,05

Figura 8: resultados globales del análisis de enriquecimiento funcional de los genes comunes para el cluster 8. MF (función molecular), BP (proceso biológico), CC (componente celular), CORUM y HP (Ontología del fenotipo Humao). KEGG, REAC (reactoma) y WP (WikiPathways) pertenecen a bases de datos de rutas biológicas. MIRNA (mirTarBase) pertenecen a motivos regulatorios en ADN.

○ Cluster 10

Para el conjunto de genes comunes en este cluster (IL6, TNF, IL1B) se obtuvieron los resultados globales del análisis enriquecimiento funcional con sus respectivos p-valores ajustados (FDR) (Figuras 9).

source	term_name	FDR	source	term_name	FDR	source	term_name	FDR	source	term_name	FDR	source	term_name	FDR
GO:MF	cytokine activity	0,00	GO:BP	regulation of heat generation	0,00	GO:BP	negative regulation of extrinsic apoptotic signaling pathway in absence of ligand	0,01	GO:BP	regulation of immunoglobulin production	0,02	KEGG	Pathogenic Escherichia coli infection	0,00
GO:MF	cytokine receptor binding	0,00	GO:BP	positive regulation of chemokine biosynthetic process	0,00	GO:BP	positive regulation of interleukin-6 secretion	0,01	GO:BP	positive regulation of locomotion	0,02	KEGG	Salmonella infection	0,00
GO:MF	receptor ligand activity	0,01	GO:BP	positive regulation of immune effector process	0,00	GO:BP	negative regulation of signal transduction in absence of ligand	0,01	GO:BP	regulation of T cell mediated immunity	0,02	KEGG	Human cytomegalovirus infection	0,00
GO:MF	signaling receptor activator activity	0,01	GO:BP	cellular response to lipopolysaccharide	0,00	GO:BP	positive regulation of secretion by cell	0,01	GO:BP	cellular response to lipid	0,03	KEGG	Cytokine-cytokine receptor interaction	0,00
GO:MF	receptor regulator activity	0,01	GO:BP	regulation of endothelial cell development	0,00	GO:BP	positive regulation of cell adhesion	0,01	GO:BP	positive regulation of phagocytosis	0,03	KEGG	Prion diseases	0,00
GO:BP	regulation of chemokine biosynthetic process	#####	GO:BP	regulation of establishment of endothelial barrier	0,00	GO:BP	regulation of cell-cell adhesion	0,01	GO:BP	protein secretion	0,03	KEGG	Type I diabetes mellitus	0,00
GO:BP	chemokine biosynthetic process	#####	GO:BP	sequestering of triglyceride	0,00	GO:BP	lipid localization	0,01	GO:BP	establishment of protein localization to extracellular region	0,03	KEGG	Cytosolic DNA-sensing pathway	0,01
GO:BP	chemokine metabolic process	#####	GO:BP	positive regulation of interleukin-6 biosynthetic process	0,00	GO:BP	positive regulation of protein transport	0,01	GO:BP	protein localization to extracellular region	0,03	KEGG	Herpes simplex virus 1 infection	0,01
GO:BP	positive regulation of neuroinflammatory response	#####	GO:BP	positive regulation of hormone metabolic process	0,00	GO:BP	positive regulation of nitric oxide biosynthetic process	0,01	GO:BP	positive regulation of response to external stimulus	0,03	KEGG	Leishmaniasis	0,01
GO:BP	positive regulation of glial cell proliferation	#####	GO:BP	fat-soluble vitamin biosynthetic process	0,00	GO:BP	regulation of DNA-binding transcription factor activity	0,01	GO:BP	positive regulation of tyrosine phosphorylation of STAT protein	0,03	KEGG	Hypertrophic cardiomyopathy (HCM)	0,02
GO:BP	astrocyte activation	0,00	GO:BP	glial cell differentiation	0,00	GO:BP	positive regulation of catabolic process	0,01	GO:BP	nitric oxide biosynthetic process	0,03	KEGG	Viral protein interaction with cytokine and cytokine receptor	0,02
GO:BP	positive regulation of acute inflammatory response	0,00	GO:BP	cellular response to molecule of bacterial origin	0,00	GO:BP	positive regulation of secretion	0,01	GO:BP	peptide secretion	0,03	KEGG	NF-kappa B signaling pathway	0,02
GO:BP	regulation of glial cell proliferation	0,00	GO:BP	positive regulation of leukocyte cell-cell adhesion	0,00	GO:BP	positive regulation of nitric oxide metabolic process	0,01	GO:BP	signal transduction in absence of ligand	0,03	KEGG	Th17 cell differentiation	0,02
GO:BP	astrocyte development	0,00	GO:BP	heat generation	0,00	GO:BP	cellular response to drug	0,01	GO:BP	extrinsic apoptotic signaling pathway in absence of ligand	0,03	KEGG	Insulin resistance	0,03
GO:BP	regulation of neuroinflammatory response	0,00	GO:BP	cellular response to biotic stimulus	0,00	GO:BP	regulation of immune effector process	0,01	GO:BP	adaptive immune response	0,03	KEGG	Osteoclast differentiation	0,04
GO:BP	acute-phase response	0,00	GO:BP	positive regulation of steroid biosynthetic process	0,00	GO:BP	regulation of hormone metabolic process	0,01	GO:BP	positive regulation of NIK/NF-kappaB signaling	0,03	KEGG	Fluid shear stress and atherosclerosis	0,04
GO:BP	regulation of acute inflammatory response	0,00	GO:BP	regulation of immunoglobulin secretion	0,00	GO:BP	T cell cytokine production	0,01	GO:BP	regulation of alcohol biosynthetic process	0,03	KEGG	Measles	0,04
GO:BP	glial cell proliferation	0,00	GO:BP	peptide hormone secretion	0,00	GO:BP	regulation of endothelial cell differentiation	0,01	GO:BP	nitric oxide metabolic process	0,03	REAC	Interleukin-10 signaling	0,00
GO:BP	positive regulation of chemokine production	0,00	GO:BP	positive regulation of DNA-binding transcription factor activity	0,00	GO:BP	membrane protein ectodomain proteolysis	0,01	GO:BP	regulation of glucose transmembrane transport	0,04	REAC	Interleukin-4 and Interleukin-13 signaling	0,00
GO:BP	glial cell activation	0,00	GO:BP	positive regulation of cell-cell adhesion	0,00	GO:BP	fat-soluble vitamin metabolic process	0,01	GO:BP	reactive nitrogen species metabolic process	0,04	REAC	Signaling by Interleukins	0,01
GO:BP	positive regulation of vitamin D biosynthetic process	0,00	GO:BP	positive regulation of T cell cytokine production	0,00	GO:BP	positive regulation of T cell mediated immunity	0,01	GO:BP	positive regulation of lipid biosynthetic process	0,04	WP	LTF danger signal response pathway	8,99E+08
GO:BP	positive regulation of calcidiol 1-monoxygenase activity	0,00	GO:BP	positive regulation of protein secretion	0,00	GO:BP	positive regulation of establishment of protein localization	0,01	GO:BP	regulation of cell adhesion	0,04	WP	Cytokines and Inflammatory Response	0,00
GO:BP	positive regulation of cytokine biosynthetic process	0,00	GO:BP	immunoglobulin secretion	0,00	GO:BP	positive regulation of cytokine production	0,01	GO:BP	regulation of tyrosine phosphorylation of STAT protein	0,04	WP	Development and heterogeneity of the ILC family	0,00
GO:BP	lipid storage	0,00	GO:BP	negative regulation of lipid storage	0,00	GO:BP	establishment of endothelial barrier	0,01	GO:BP	regulation of interleukin-8 production	0,04	WP	Signal transduction through ILIR	0,00
GO:BP	positive regulation of gliogenesis	0,00	GO:BP	vitamin D metabolic process	0,00	GO:BP	signal release	0,01	GO:BP	tyrosine phosphorylation of STAT protein	0,04	WP	Photodynamic therapy-induced NF-kB survival signaling	0,00
GO:BP	neuroinflammatory response	0,00	GO:BP	CD4-positive, alpha-beta T cell cytokine production	0,00	GO:BP	regulation of extrinsic apoptotic signaling pathway in absence of ligand	0,01	GO:BP	response to bacterium	0,04	WP	Vitamin B12 Metabolism	0,00
GO:BP	astrocyte differentiation	0,00	GO:BP	negative regulation of glucose transmembrane transport	0,00	GO:BP	multicellular organismal homeostasis	0,01	GO:BP	hormone biosynthetic process	0,04	WP	Lung fibrosis	0,00
GO:BP	regulation of cytokine production involved in immune response	0,00	GO:BP	positive regulation of peptide secretion	0,00	GO:BP	positive regulation of neurogenesis	0,01	GO:BP	regulation of protein transport	0,04	WP	Folate Metabolism	0,00
GO:BP	regulation of chemokine production	0,00	GO:BP	production of molecular mediator of immune response	0,00	GO:BP	leukocyte migration	0,01	GO:BP	regulation of MAPK cascade	0,04	WP	Selenium Micronutrient Network	0,00
GO:BP	positive regulation of interleukin-6 production	0,00	GO:BP	negative regulation of lipid catabolic process	0,00	GO:BP	regulation of lipid storage	0,01	GO:BP	regulation of epithelial to mesenchymal transition	0,05	WP	Toll-like Receptor Signaling Pathway	0,00
GO:BP	chemokine production	0,00	GO:BP	negative regulation of neurogenesis	0,00	GO:BP	regulation of protein secretion	0,01	GO:BP	positive regulation of receptor signaling pathway via JAK-STAT	0,05	WP	Role of Altered Glycolysis of MUC1 in Tumour Microenvironment	0,00

GO:BP	positive regulation of adaptive immune response based on somatic recombination of immune receptors built from immunoglobulin superfamily domains	0,00	GO:BP	gliogenesis	0,00	GO:BP	positive regulation of defense response	0,01	GO:BP	regulation of cytokine production	0,05	WVP	Spinal Cord Injury	0,00
GO:BP	positive regulation of lymphocyte mediated immunity	0,00	GO:BP	regulation of membrane protein ectodomain proteolysis	0,00	GO:BP	negative regulation of fat cell differentiation	0,01	GO:BP	mononuclear cell migration	0,05	WVP	Regulation of toll-like receptor signaling pathway	0,00
GO:BP	positive regulation of adaptive immune response	0,00	GO:BP	vitamin biosynthetic process	0,00	GO:BP	regulation of nitric-oxide synthase activity	0,01	GO:BP	regulation of steroid biosynthetic process	0,05	WVP	Nonalcoholic fatty liver disease	0,00
GO:BP	positive regulation of vitamin metabolic process	0,00	GO:BP	negative regulation of cell junction assembly	0,00	GO:BP	positive regulation of epithelial to mesenchymal transition	0,01	GO:BP	negative regulation of cell differentiation	0,05	WVP	Sudden Infant Death Syndrome (SIDS) Susceptibility Pathways	0,00
GO:BP	cytokine production involved in immune response	0,00	GO:BP	hormone secretion	0,00	GO:BP	leukocyte differentiation	0,02	GO:BP	interleukin-8 production	0,05	WVP	Cells and Molecules involved in local acute inflammatory response	0,00
GO:BP	acute inflammatory response	0,00	GO:BP	regulation of leukocyte cell-cell adhesion	0,00	GO:BP	regulation of peptide secretion	0,02	GO:BP	negative regulation of cell population proliferation	0,05	WVP	Overview of nanoparticle effects	0,00
GO:BP			GO:BP	negative regulation of nervous system development	0,00	GO:BP	leukocyte activation involved in inflammatory response	0,02	GO:BP	positive regulation of receptor signaling pathway via STAT	0,05	WVP	Transcription factor regulation in adipogenesis	0,00
GO:BP	glial cell development	0,00	GO:BP	hormone transport	0,00	GO:BP	positive regulation of interleukin-8 production	0,02	GO:BP	inflammatory response	0,05	WVP	Vitamin D in inflammatory diseases	0,00
GO:BP	regulation of cytokine biosynthetic process	0,00	GO:BP	regulation of heterotypic cell-cell adhesion	0,00	GO:BP	positive regulation of reactive oxygen species biosynthetic process	0,02	GO:BP	negative regulation of lipid metabolic process	0,05	WVP	TLR4 Signaling and Tolerance	0,00
GO:BP	positive regulation of leukocyte mediated immunity	0,00	GO:BP	positive regulation of alcohol biosynthetic process	0,00	GO:BP	microglial cell activation	0,02	KEGG	Antifolate resistance	0,00	WVP	Oligodendrocyte Specification and differentiation (including remyelination), leading to Myelin Components for CNS	0,00
GO:BP	regulation of gliogenesis	0,00	GO:BP	positive regulation of vascular endothelial growth factor production	0,00	GO:BP	regulation of hormone levels	0,02	KEGG	Graft-versus-host disease	0,00	WVP	Monoamine Transport	0,00
GO:BP	regulation of caldiol 1-monoxygenase activity	0,00	GO:BP	positive regulation of steroid metabolic process	0,00	GO:BP	regulation of lipid catabolic process	0,02	KEGG	African trypanosomiasis	0,00	WVP	Resistin as a regulator of inflammation	0,00
GO:BP	positive regulation of fever generation	0,00	GO:BP			GO:BP	positive regulation of cytokine production involved in immune response	0,02	KEGG	Malaria	0,00	WVP	TNF related weak inducer of apoptosis (TWAK) Signaling Pathway	0,01
GO:BP	cytokine biosynthetic process	0,00	GO:BP	response to virus	0,00	GO:BP	positive regulation of MAPK cascade	0,02	KEGG	Legionellosis	0,00	WVP	Aryl Hydrocarbon Receptor Pathway	0,01
GO:BP	cytokine metabolic process	0,00	GO:BP	regulation of interleukin-6 biosynthetic process	0,00	GO:BP	positive regulation of oxidoreductase activity	0,02	KEGG	Inflammatory bowel disease (IBD)	0,00	WVP	NO/cGMP/PKG mediated Neuroprotection	0,01
GO:BP	regulation of lymphocyte mediated immunity	0,00	GO:BP	response to lipopolysaccharide	0,00	GO:BP								
GO:BP	regulation of adaptive immune response based on somatic recombination of immune receptors built from immunoglobulin superfamily domains	0,00	GO:BP	negative regulation of cell development	0,00	GO:BP	positive regulation of cell migration	0,02	KEGG	Pertussis	0,00	WVP	Photodynamic therapy-induced AP-1 survival signaling	0,01

GO:BP	regulation of production of molecular mediator of immune response	0,00	GO:BP	maintenance of location	0,00	GO:BP	positive regulation of nervous system development	0,02	KEGG	Rheumatoid arthritis	0,00	WVP	miRNAs involvement in the immune response in sepsis	0,01
GO:BP	regulation of fever generation	0,00	GO:BP	regulation of hormone biosynthetic process	0,00	GO:BP	lipopolysaccharide-mediated signaling pathway	0,02	KEGG	IL-17 signaling pathway	0,00	WVP	Hematopoietic Stem Cell Differentiation	0,01
GO:BP	positive regulation of inflammatory response	0,00	GO:BP	leukocyte cell-cell adhesion	0,00	GO:BP	interleukin-6 secretion	0,02	KEGG	Hematopoietic cell lineage	0,00	WVP	Non-genomic actions of 1,25 dihydroxyvitamin D3	0,01
GO:BP	regulation of vitamin D biosynthetic process	0,00	GO:BP	lymphocyte mediated immunity	0,00	GO:BP	positive regulation of cell development	0,02	KEGG	AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications	0,00	WVP	Cytosolic DNA-sensing pathway	0,02
GO:BP	regulation of adaptive immune response	0,00	GO:BP	interleukin-6 biosynthetic process	0,00	GO:BP	membrane protein proteolysis	0,02	KEGG	Chagas disease (American trypanosomiasis)	0,00	WVP	Viral Acute Myocarditis	0,02
GO:BP			GO:BP	adaptive immune response based on somatic recombination of immune receptors built from immunoglobulin superfamily domains	0,00	GO:BP			KEGG			WVP		
GO:BP	regulation of interleukin-6 production	0,00	GO:BP	humoral immune response	0,00	GO:BP	positive regulation of cell motility	0,02	KEGG	Amoebiasis	0,00	WVP	Allograft Rejection	0,02
GO:BP	regulation of lipid localization	0,00	GO:BP	response to molecule of bacterial origin	0,01	GO:BP	heterotypic cell-cell adhesion	0,02	KEGG	Toll-like receptor signaling pathway	0,00	WVP	T-Cell antigen Receptor (TCR) Signaling Pathway	0,02
GO:BP	interleukin-6 production	0,00	GO:BP	positive regulation of monooxygenase activity	0,01	GO:BP	endothelial cell development	0,02	KEGG	C-type lectin receptor signaling pathway	0,00	WVP	TNF alpha Signaling Pathway	0,03
GO:BP	fever generation	0,00	GO:BP	positive regulation of cellular catabolic process	0,01	GO:BP	regulation of nitric oxide biosynthetic process	0,02	KEGG	TNF signaling pathway	0,00	WVP	Alzheimers Disease	0,03
GO:BP	positive regulation of hormone biosynthetic process	0,00	GO:BP	regulation of T cell cytokine production	0,01	GO:BP	regulation of monooxygenase activity	0,02	KEGG	Yersinia infection	0,00	WVP	Senescence and Autophagy in Cancer	0,03
GO:BP	positive regulation of heat generation	0,00	GO:BP	regulation of vascular endothelial growth factor production	0,01	GO:BP	positive regulation of cellular component movement	0,02	KEGG	Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)	0,00	WVP	Adipogenesis	0,05
GO:BP	vitamin D biosynthetic process	0,00	GO:BP	regulation of endothelial growth factor production	0,01	GO:BP	negative regulation of lipid localization	0,02	KEGG	Influenza A	0,00			
GO:BP	regulation of leukocyte mediated immunity	0,00	GO:BP	vascular endothelial growth factor production	0,01	GO:BP	positive regulation of interferon-gamma production	0,02	KEGG	Tuberculosis	0,00			
GO:BP	regulation of vitamin metabolic process	0,00	GO:BP	regulation of inflammatory response	0,01	GO:BP	inflammatory response to antigenic stimulus	0,02	KEGG	NOD-like receptor signaling pathway	0,00			

Figura 9: resultados globales del análisis de enriquecimiento funcional de los genes comunes para el cluster 10. MF (función molecular), BP (proceso biológico), CC (componente celular), CORUM y HP (Ontología del fenotipo Humano). KEGG, REAC (reactoma) y WP (WikiPathways) pertenecen a bases de datos de rutas biológicas. MIRNA (mirTarBase) pertenecen a motivos regulatorios en ADN.

○ Clusters 3, 5, 9, 10 y 11

Para los genes comunes en los clusters 3, 5, 9 y 11: APOE, CD14, VDR y BDNF respectivamente, se obtuvieron los resultados globales del análisis enriquecimiento funcional con sus respectivos p-valores ajustados (FDR) (Figura 10).

CLUSTER 3		
source	term_name	FDR
GO:MF	metal chelating activity	0,02
GO:BP	intermediate-density lipoprotein particle clearance	0,05
GO:BP	cellular response to very-low-density lipoprotein particle stimulus	0,05
GO:BP	regulation of lipid transport across blood-brain barrier	0,05
GO:BP	positive regulation of lipid transport across blood-brain barrier	0,05
GO:BP	regulation of heparan sulfate binding	0,05
GO:BP	positive regulation of heparan sulfate binding	0,05
GO:BP	regulation of heparan sulfate proteoglycan binding	0,05
GO:BP	positive regulation of heparan sulfate proteoglycan binding	0,05
GO:BP	regulation of cellular response to very-low-density lipoprotein particle stimulus	0,05
GO:CC	discoidal high-density lipoprotein particle	0,04
WP	ApoE and miR-146 in inflammation and atherosclerosis	0,04
WP	Composition of Lipid Particles	0,05
WP	Type IV atherosclerotic lesion	0,05
WP	Atherosclerotic lesion	0,05
HP	Type IV atherosclerotic lesion	0,05
HP	Atherosclerotic lesion	0,05
CLUSTER 5		
source	term_name	FDR
REAC	Transfer of LPS from LBP carrier to CD14	0,02
WP	Macrophage markers	0,05
CLUSTER 9		
source	term_name	FDR
GO:MF	lithocholic acid receptor activity	0,02
GO:MF	calcitriol binding	0,02
GO:MF	lithocholic acid binding	0,02
GO:MF	D3 vitamins binding	0,05
WP	Vitamins A and D - action mechanisms	0,02
MIRNA	hsa-miR-6749-5p	0,04
CLUSTER 11		
source	term_name	FDR
GO:BP	positive regulation of brain-derived neurotrophic factor receptor signaling pathway	0,05
GO:BP	retrograde trans-synaptic signaling by neuropeptide, modulating synaptic transmission	0,05
REAC	BDNF activates NTRK2 (TRKB) signaling	0,02
REAC	Activated NTRK2 signals through PLCG1	0,05
REAC	NTRK2 activates RAC1	0,05

Figura 10: resultados globales del análisis de enriquecimiento funcional de los genes comunes para los clusters 3, 5, 9 y 11. MF (función molecular), BP (proceso biológico), CC (componente celular), CORUM y HP (Ontología del fenotipo Humano). KEGG, REAC (reactoma) y WP (WikiPathways) pertenecen a bases de datos de rutas biológicas. MIRNA (mirTarBase) pertenecen a motivos regulatorios en ADN.

4.7.3. Redes de interacción a partir de los genes comunes por cluster.

Se llevó a cabo la construcción de redes de interacción, mediante la aplicación *GeneMANIA* lanzada sobre *Cytoscape*, para cada gen o conjunto de genes comunes por cluster (Figura 11). Las redes individuales y los genes correspondientes a cada una de las redes de interacción, junto con su descripción y su valor de puntuación otorgado, se encuentran en el anexo II. Dicho valor de puntuación indica la relevancia de cada gen en la lista original. Los valores más altos indican genes que tienen una mayor probabilidad de estar funcionalmente relacionados.

Para completar este análisis se procedió a intersectar, mediante la construcción de un diagrama de *Venn*, las listas de genes procedentes de cada una de las redes de interacción generadas (Figura 12). Únicamente se encontró un gen en común entre los clusters 9 y 10: NFKBIA.

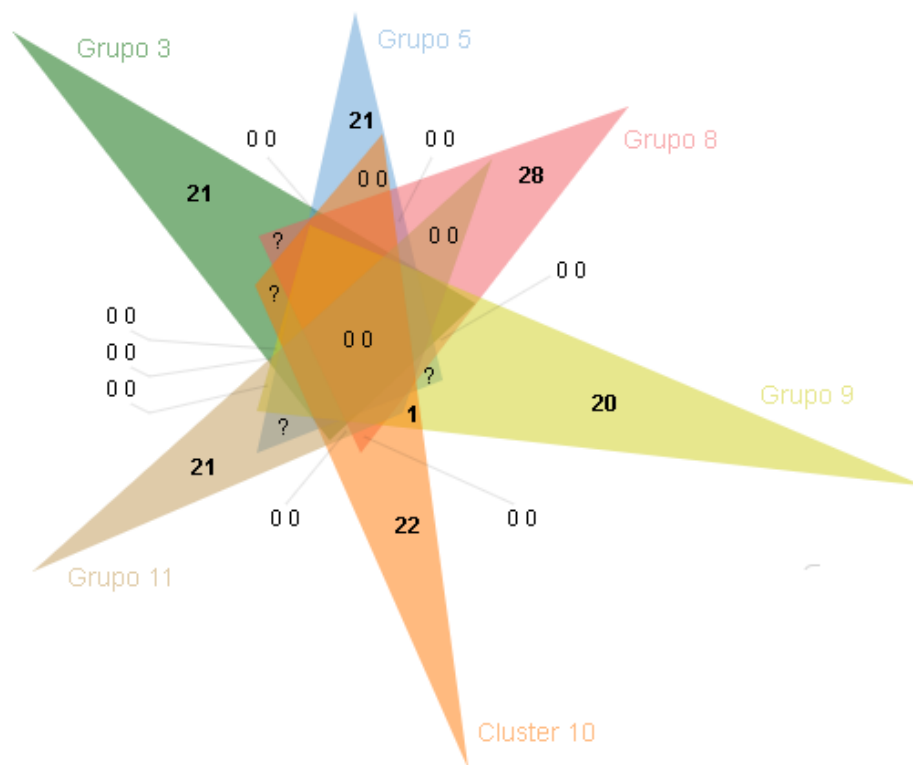


Figura 12: Diagrama de Venn en el que se muestra la intersección de las listas de genes procedentes de las redes de interacción generadas por cluster. En la imagen aparece cada cluster denominado como grupo.

5. DISCUSIÓN.

El principal objetivo de este trabajo de fin de máster es contribuir al estudio de la relación entre la STXBP1-E sindrómica y la STXBP1-E molecular. Para ello se propone un abordaje inicial de análisis desde una perspectiva de *Biomedicina de Sistemas*, es decir, mediante la integración y el análisis de datos masivos, clínicos y moleculares, a distintos niveles utilizando principalmente métodos computacionales. Además, presentamos una primera caracterización de la comorbilidad molecular en la STXBP1-E, entendida como las relaciones entre los genes, productos génicos y procesos biológicos asociados a la STXBP1-E y a sus principales alteraciones clínicas.

El gen STXBP1 está implicado en el proceso de liberación de neurotransmisores por parte de las vesículas sináptica y codifica la proteína de unión a sintaxina 1 (STXBP1 o también conocida como Munc18.1). Las mutaciones en este gen están relacionadas con la encefalopatía STXBP1, que abarca un amplio espectro de trastornos. Es una de las primeras encefalopatías infantiles epilépticas (EIEE4), también conocida como el síndrome STXBP1.

Tras la construcción de redes de asociación, tanto del gen STXBP1 en general como de las variantes genéticas en particular, con los diferentes fenotipos, hemos detectado que existen 18 desórdenes de 5 tipos distintos asociados. En la primera red (Figura 2) se puede observar una gran cantidad de relaciones de tipo “variación genética” entre el gen STXBP1 y la encefalopatía epiléptica infantil temprana tipo 4 (EIEE4), en comparación con el resto de trastornos. Cabe destacar que existen relaciones de tipo “variación genética” con otras encefalopatías epilépticas tempranas, como lo es el Síndrome de West. Además, en la segunda red de asociación (Figura 3), la mayoría de las variantes genéticas del gen STXBP1 tienen relación con la EIEE4, término médico con el que se describe este síndrome.

Por otro lado, tras clasificar las 416 variantes asociadas al gen STXBP1, encontramos que de entre todos los fenotipos asociados a estas variantes el que aparece con mayor frecuencia es “no especificado”. Esto indica que la mayoría de las variantes encontradas para este gen no se han correlacionado con un fenotipo concreto; es decir, no se han podido proporcionar correlaciones genotipo/fenotipo. Esto sugiere que existen mecanismos que están actuando en el desarrollo de esta enfermedad y que aún no se conocen.

Sí que está bien documentado que existe un vínculo genético entre el gen STXBP1 y la encefalopatía; sin embargo, no está claro si la patología se deriva de una pérdida de la función de este gen o de una ganancia de la función patológica relacionada con la agregación de proteínas mutadas con STXBP1 (Lanove *et al.*, 2019). En este sentido, existen evidencias que apoyan la hipótesis de que la haploinsuficiencia es el principal mecanismo patogénico que

subyace a la encefalopatía STXBP1, lo que puede explicar la ausencia de una correlación entre el genotipo y el fenotipo (Lammertse *et al.*, 2019).

Por otro lado, si se tienen en cuenta los resultados obtenidos en la base de datos de agregación del genoma (*gnomAD*), se puede observar que la probabilidad de ser intolerante a la pérdida de función es significativamente alta para el gen STXBP1 ($P_{li}=1$). Este resultado apoya que este gen está dentro de la categoría de genes haploinsuficientes (Lammertse *et al.*, 2019).

En definitiva, parece claro que para este síndrome existe una amplia variabilidad genotípica y fenotípica que complica el diagnóstico y, como consecuencia, la búsqueda de un tratamiento específico. Las mutaciones *de novo* en el gen STXBP1, se han asociado con formas graves de encefalopatía epiléptica temprana en pacientes con síndrome de Ohtahara, el cual se caracteriza por frecuentes convulsiones refractarias tónicas generalizadas. También se han encontrado mutaciones de este gen en pacientes con síndrome de West, en el que las principales manifestaciones clínicas son los espasmos tónicos con agrupamiento, la detención del desarrollo psicomotor y la hipsarritmia. Igual sucede en los síndromes de Dravet, de Lennox-Gaustaut y de Rett (Khaikin y Mercimek-Mahmutoglu, 2016; Nieto-Estévez y Hsieh, 2016). En este sentido, las mutaciones en STXBP1 se informaron en pacientes con el síndrome de Ohtahara. Posteriormente, surgieron estudios donde se encontraron variantes asociadas a otros fenotipos de epilepsia severa como el síndrome de Dravet, el síndrome de West, el síndrome de Lennox-Gastaut, y epilepsia con convulsiones mioclónicas-atónicas (Symonds y McTague, 2020). Todo esto contribuye a que el diagnóstico de un paciente con mutación en el gen STXBP1 sea realmente complejo, y que se hayan detectado casos de pacientes mal diagnosticados que, después del avance en investigación sobre esta patología, han sido informados de síndrome STXBP1 y no de los síndromes mencionados anteriormente.

El estudio de prevalencia de las distintas enfermedades que ocurren conjuntamente con la encefalopatía epiléptica infantil temprana tipo 4, propuestas por la asociación *Simons Serchlight*, revela que no se ha encontrado una comorbilidad común para todos los pacientes con síndrome STXBP1. Además, al comparar la prevalencia de cada enfermedad en la clasificación de la asociación *Simons Serchlight* y la prevalencia mundial en niños, se destaca que existe una mayor frecuencia en niños diagnosticados con el síndrome STXBP1 para la mayoría de comorbilidades estudiadas. Dentro de las comorbilidades con una prevalencia mayor en niños con síndrome STXBP1, destacan la discapacidad intelectual, el retraso del desarrollo, trastornos del espectro autista, la regresión debido a convulsiones, el tono muscular bajo y la parálisis cerebral. Una amplia variedad de estudios han concluido que los pacientes con mutaciones en el gen STXBP1 presentan como anomalías fenotípicas clave la

discapacidad intelectual, la epilepsia y los trastornos del movimiento. Sin embargo, también se han detectado pacientes que presentan discapacidad intelectual sin epilepsia, trastorno del espectro autista, tono muscular anormal (hipotonía, espasticidad) o trastornos del movimiento como ataxia, distonía o temblor entre otros (Khaikin y Mercimek-Mahmutoglu, 2016; Uddin *et al.*, 2017). Esto respalda el hecho de que el estudio realizado en este trabajo sobre la prevalencia de estas enfermedades resulte mayor en la población de niños con STXBP1.

A partir de las comorbidades que cursan con el síndrome STXBP1, nos propusimos conocer la relación de proximidad genética existente entre ellas, para lo que se generó un dendograma donde quedan reflejados 11 clusters de comorbilidades. En la mayoría de ellos, el coeficiente de Jaccard generado es superior a 0.65, lo que indica que los agrupamientos no se han producido al azar. Se pueden observar grupos de comorbilidades que aparecen con mayor frecuencia en pacientes con STXBP1, como el autismo y los desórdenes del lenguaje.

Cabe destacar que, comparando las listas de genes asociados a cada una de las comorbilidades presentes, solo en 6 de los 11 cluster se encuentran genes en común para todos los componentes del grupo en particular. Se realizó un análisis de enriquecimiento funcional con el fin de conocer los procesos biológicos y funcionales en los cuales participan dichos genes, además de intentar establecer si existe una relación entre estos y el síndrome STXBP1.

El cluster 8 presentó un mayor número de genes en común y, de entre sus procesos biológicos, destacan la fosforilación oxidativa y respuesta a la hiperoxia y, como fenotipos humanos destacables, la hiperventilación, una expresión facial disminuida, muerte en la edad adulta temprana, una anomalía del metabolismo mitocondrial, hipertiroidismo, miocardiopatía dilatada, espasmos infantiles, temblor postural y ataxia de la marcha, entre otros. En el cluster 10 destacan procesos biológicos como la regulación positiva de la respuesta neuroinflamatoria, la regulación de la respuesta inflamatoria, la regulación de la producción del factor de crecimiento endotelial vascular, la regulación de la adhesión célula-célula, la regulación positiva del transporte de proteínas, la regulación positiva del proceso biosintético de especies reactivas de oxígeno, la respuesta inflamatoria, la regulación del transporte transmembrana de glucosa y la regulación negativa de la proliferación de la población celular. En el cluster 3 se detectan los fenotipos humanos de lesión aterosclerótica tipo IV y lesión aterosclerótica. Los genes de los clusters 5 y 9 participan en los procesos dependientes de macrófagos y vinculantes a la vitamina D3, respectivamente. Y, por último, en el cluster 11 destacan los procesos biológicos de regulación positiva de la vía de señalización del receptor del factor neurotrófico derivado del cerebro, así como la señalización trans-sináptica retrógrada por neuropéptido, modulando la transmisión sináptica.

Posteriormente a este análisis, se generaron redes de interacción con los genes comunes para cada cluster. En el cluster 8, los genes TRNAU1AP, MLANA, NOC2L e IMPG1 destacaron con una mayor puntuación dentro de la red. Así mismo, también destacaron con los mayores valores de puntuación dentro de sus redes de interacción los siguientes genes: TNFRSF1A, MAP3K3, HRH1 e IL6R para el cluster 10; LDLRAP1, LIPC, APOA5 y LDLR para el cluster 3; LBP, LY86, CD180 y TLR4 para el cluster 5; BAG1, LEF1, TOB2 y TRIM24 para el cluster 9; y NTF4, NTF3, NTRK2 y EHD4 para el cluster 11. Estos genes podrían ser susceptibles de estudio como posibles dianas terapéuticas de las comorbilidades asociadas al síndrome STXBP1.

En relación con los procesos biológicos asociados a cada cluster, se observa que esta encefalopatía epiléptica infantil temprana es una patología compleja y variable, ya que no solo se ven afectados procesos y funciones biológicas relacionadas con el sistema nervioso, sino que también se están viendo afectados procesos y funciones que pertenecen a otros sistemas, todos ellos interaccionando de modo complejo y susceptible de un estudio más profundo.

6. CONCLUSIÓN.

Como conclusión, podemos decir que existe una amplia variabilidad genotípica y fenotípica entre los pacientes con el síndrome STXBP1 lo que hace que, aun pudiendo considerarse la STXBP1-E como una alteración monogénica, su estudio debe abordarse considerando a la misma como una enfermedad de elevada complejidad clínica y molecular. Cabe destacar que existe la posibilidad de que en el desarrollo de esta enfermedad existan mecanismos aún desconocidos que están actuando.

Respecto a las comorbilidades encontradas y estudiadas, en general existe una prevalencia mayor en pacientes con síndrome STXBP1. Además, al agrupar dichas comorbilidades según el perfil génico, no se detectan genes comunes para todos los clusters generados, por lo que todo apunta a que la mayoría de dichas comorbilidades ocurren con una frecuencia similar a como podrían manifestarse en un niño sano.

Así pues, podemos decir que es un difícil y apasionante reto tratar de encontrar las relaciones genotipo/fenotipo que nos lleven a paliar las alteraciones propias de cada individuo y, con ello, mejorar su calidad de vida, lo cual nos proponemos llevar a cabo en futuros proyectos de investigación.

7. BIBLIOGRAFÍA.

- Al Mehdi, K., Fouad, B., Zouhair, E., Boutaina, B., Yassine, N. and Chaimaa, A., Najat, S., Hassan, R., Rachida, R., Abdelhamid, B., and Halima, N. (2019). Molecular Modelling and Dynamics Study of nsSNP in STXBP1 Gene in Early Infantile Epileptic Encephalopathy Disease. *Biomed Research International*, 2019, 1-14.
- Auvin, S., Cilio, M. and Vezzani, A. (2016). Current understanding and neurobiology of epileptic encephalopathies. *Neurobiology Of Disease*, 92, 72-89.
- Chen, H. and Boutros, P. (2011). VennDiagram: a package for the generation of highly-customizable Venn and Euler diagrams in R. *BMC Bioinformatics*, 12, 35-42.
- Cogliati, F., Giorgini, V., Masciadri, M., Bonati, M., Marchi, M., Cracco, I., Gentilini, D., Peron, A., Savini, M., Spaccini, L., Scelsa, B., Maitz, S., Veneselli, E., Prato, G., Pintaudi, M., Moroni, I., Vignli, A., Larizza, L. and Russo, S. (2019). Pathogenic Variants in STXBP1 and in Genes for GABA_A Receptor Subunits Cause Atypical Rett/Rett-like Phenotypes. *International Journal Of Molecular Sciences*, 20(15), 3621.
- Díaz-Beltrán, L., Cano, C., Wall, D. P. and Esteban, F. J. (2013). Systems Biology as a comparative approach to understand complex gene expression in neurological diseases. *Behavioral Sciences*, 3, 253-272.
- Helbig, I. and Abou Tayoun, A. (2016). Understanding Genotypes and Phenotypes in Epileptic Encephalopathies. *Molecular Syndromology*, 7(4), 172-181.
- Howell, KB., Harvey, A. and Archer, JS. (2016). Epileptic encephalopathy: Use and misuse of a clinically and conceptually important concept. *Epilepsia*, 57(3), 343-347.
- Hulsen, T., de Vlieg, J. and Alkema, W. (2008). BioVenn – a web application for the comparison and visualization of biological lists using area-proportional Venn diagrams. *BMC Genomics*, 9, 488-494.
- Khaikin, Y. and Mercimek-Mahmutoglu, S. (2016). STXBP1 Encephalopathy with Epilepsy. Universidad de Washington, Seattle. *GeneReviews® [Internet]*.
- Kovačević, J., Maroteaux, G., Schut, D., Loos, M., Dubey, M., & Pitsch, J., Remmelink, E., Koopmans, B., Crowley, J., Cornelisse, L., Sullivan, P., Schoch, S., Toonen, R., Stiedl, O. and Verhage, M. (2018). Protein instability, haploinsufficiency, and cortical hyper-excitability underlie STXBP1 encephalopathy. *Brain*, 141(5), 1350-1374.

- Lammertse, H., van Berkel, A., Iacomino, M., Toonen, R., Striano, P., Gambardella, A., Verhage, M. and Zara, F. (2019). Homozygous STXBP1 variant causes encephalopathy and gain-of-function in synaptic transmission. *Brain*, 143(2), 441-451.
- Lanoue, V., Chai, Y., Brouillet, J., Weckhuysen, S., Palmer, E., Collins, B. and Meunier, F. (2019). STXBP1 encephalopathy. *Neurology*, 93(3), 114-123.
- McTague, A., Howell, K., Cross, J., Kurian, M. and Scheffer, I. (2016). The genetic landscape of the epileptic encephalopathies of infancy and childhood. *The Lancet Neurology*, 15(3), 304-316.
- Møller, R., Liebmann, N., Larsen, L., Stiller, M., Hentschel, J. and Kako, N. (2019). Parental mosaicism in epilepsies due to alleged de novo variants. *Epilepsia*.
- Montejo, J., Zuberi, K., Rodriguez, H., Bader, G. and Morris, Q. (2014). GeneMANIA: Fast gene network construction and function prediction for Cytoscape. *F1000Research*, 3, 153-160.
- Murillo, E. (2019). Características de las personas con el síndrome STXBP1 en España: implicaciones para el diagnóstico. *Anales De Pediatría*.
- Nieto-Estévez, V. and Hsieh, J. (2016). Heterozygous STXBP1 Mutations Associated With Ohtahara Syndrome: Two Littles Make a Lot. *Epilepsy Curr.* 16(5), 330-332.
- O'Brien, S., Ng-Cordell, E., Astle, D.E., Scerif, G. and Baker, K. (2019). STXBP1-associated neurodevelopmental disorder: a comparative study of behavioural characteristics. *J Neurodevelopmental Disord* 11, 17.
- Pérez-Palma, E., Gramm, M., Nürnberg, P., May, P. and Lal, D. (2019). Simple ClinVar: an interactive web server to explore and retrieve gene and disease variants aggregated in ClinVar database. *Nucleic Acids Research*, 47(W1), W99-W105.
- Bardou, P., Mariette, J., Escudié, F., Djemiel, C. and Klopp, C. (2014). Jvenn: un visor interactivo de diagramas de Venn. *BMC Bioinformatics*, 15, 293.
- Piñero, J., Ramírez-Anguita, J., Saüch-Pitarch, J., Ronzano, F., Centeno, E., Sanz, F. and Furlong, L. (2019). The DisGeNET knowledge platform for disease genomics: 2019 update. *Nucleic Acids Research*.
- Reimand, J., Arak, T., Adler, P., Kolberg, L., Reisberg, S., Peterson, H. and Vilo, J. (2016). g:Profiler—a web server for functional interpretation of gene lists (2016 update). *Nucleic Acids Research*, 44(W1), W83-W89.

- Reimand, J., Kull, M., Peterson, H., Hansen, J. and Vilo, J. (2007). g:Profiler—a web-based toolset for functional profiling of gene lists from large-scale experiments. *Nucleic Acids Research*, 35(suppl_2), W193-W200.
- Stamberger, H., Nikanorova, M., Willemsen, M., Accorsi, P., Angriman, M. and Baier, H. et al. (2016). STXBP1encephalopathy. *Neurology*, 86(10), 1-9.
- Stamberger, H., Weckhuysen, S. and De Jonghe, P. (2017). STXBP1 as a therapeutic target for epileptic encephalopathy. *Expert Opinion On Therapeutic Targets*, 21(11), 1744-7631.
- Stepien, K., Prinslow, E. and Rizo J. (2019). Munc18-1 is crucial to overcome the inhibition of synaptic vesicle fusion by α SNAP. *Nat Commun*, 10(1), 4326.
- Symonds, JD. and McTague, A.(2020) Epilepsy and developmental disorders: Next generation sequencing in the clinic. *Eur J Paediatr Neurol*, 24, 15-23.
- Uddin, M., Woodbury-Smith, M., Chan, A., Brunga, L., Lamoureux, S., & Pellecchia, G., Yuen, R., Faheem, M., Stavropoulos, D., Drake, J., Hanm, C., Hawkins, C., Shlien, A., Marshall, C., Turner, L., Minassian, B., Scherer, S. and Boelman, C. (2017). Germline and somatic mutations in STXBP1 with diverse neurodevelopmental phenotypes. *Neurology Genetics*, 3(6), e199.
- Vargas, E., Aghajanova, L., Gemzell-Danielsson, K., Altmäe, S. and Esteban FJ. (2020). Cross-disorder analysis of endometriosis and its comorbid diseases reveals shared genes and molecular pathways and proposes putative biomarkers of endometriosis. *Reprod Biomed Online*. 40(2), 305-318.
- Vargas, E., Díaz-Beltrán, L. and Esteban, F. J. (2018). Integración y análisis de datos mediante Biología de Sistemas. En: Serie Avances recientes en Ciencias Experimentales. Volumen: Biología Molecular y Celular, Biotecnología y Biomedicina. Universidad de Jáen (Ed.) (En prensa).
- Yu, W., Clyne, M., Khoury, M. and Gwinn, M. (2010). Phenopedia and Genopedia: disease-centered and gene-centered views of the evolving knowledge of human genetic associations. *Bioinformatics*, 26, 145-146.

8. ANEXO I

- Fenotipos humanos encontrados en g:Profiler a partir de los principales genes asociados a las diferentes EIEE.

Term_name	Term_id	Adjusted_p_value
Epileptic encephalopathy	HP:0200134	1,35E-91
Encephalopathy	HP:0001298	5,06E-68
Interictal epileptiform activity	HP:0011182	8,12E-53
EEG with generalized epileptiform discharges	HP:0011198	1,14E-51
Interictal EEG abnormality	HP:0025373	1,15E-51
Hypsarrhythmia	HP:0002521	1,00E-48
EEG abnormality	HP:0002353	1,49E-37
Developmental regression	HP:0002376	1,31E-36
Abnormality of central nervous system electrophysiology	HP:0030178	3,95E-36
Myoclonus	HP:0001336	8,56E-35
Abnormal nervous system electrophysiology	HP:0001311	7,85E-32
Status epilepticus	HP:0002133	5,52E-29
EEG with multifocal slow activity	HP:0010844	3,57E-24
Poor head control	HP:0002421	1,62E-22
Dyskinesia	HP:0100660	2,86E-22
EEG with abnormally slow frequencies	HP:0011203	7,96E-21
Abnormal myelination	HP:0012447	1,83E-17
Cerebral atrophy	HP:0002059	7,49E-17
Atrophy/Degeneration affecting the cerebrum	HP:0007369	1,42E-16
Brain atrophy	HP:0012444	1,09E-14
Hyperactivity	HP:0000752	4,67E-14
Limb hypertonia	HP:0002509	5,38E-14
Autistic behavior	HP:0000729	8,95E-14
Atrophy/Degeneration affecting the central nervous system	HP:0007367	2,22E-12
Seizures	HP:0001250	2,38E-12
Infantile spasms	HP:0012469	5,13E-12
Impulsivity	HP:0100710	3,10E-11
Involuntary movements	HP:0004305	4,33E-11
Spasticity	HP:0001257	2,73E-09
Abnormal corpus callosum morphology	HP:0001273	5,53E-08
Disinhibition	HP:0000734	1,07E-07
Hypertonia	HP:0001276	2,90E-07

Generalized tonic seizures	HP:0010818	5,27E-07
Upper motor neuron dysfunction	HP:0002493	9,85E-08
Epileptic spasms	HP:0011097	2,05E-07
Atonic seizures	HP:0010819	2,77E-06
Febrile seizures	HP:0002373	5,98E-07
Focal-onset seizure	HP:0007359	7,78E-07
Muscular hypotonia	HP:0001252	1,31E-07
Unsteady gait	HP:0002317	4,90E-06
Abnormality of the cerebral white matter	HP:0002500	7,42E-06
Absence seizure	HP:0002121	7,68E-06
Tremor	HP:0001337	1,20E-04
Attention deficit hyperactivity disorder	HP:0007018	2,71E-04
Abnormal muscle tone	HP:0003808	3,56E-05
Rigidity	HP:0002063	4,65E-04
Short attention span	HP:0000736	5,64E-05
Aplasia/Hypoplasia of the cerebrum	HP:0007364	8,06E-05
Aplasia/Hypoplasia involving the central nervous system	HP:0002977	8,45E-05
Delayed myelination	HP:0012448	1,15E-03
Hypodontia	HP:0000668	2,73E-04
Abnormality of central motor function	HP:0011442	6,99E-05
Decreased fetal movement	HP:0001558	1,19E-02
Abnormality of the cerebral subcortex	HP:0010993	1,74E-02
Autism	HP:0000717	2,43E-02
Microcephaly	HP:0000252	2,98E-02
High forehead	HP:0000348	3,95E-02
Decreased head circumference	HP:0040195	4,59E-02
Prenatal movement abnormality	HP:0001557	6,76E-04
Global developmental delay	HP:0001263	9,48E-03
Delayed speech and language development	HP:0000750	1,70E-01
Generalized-onset seizure	HP:0002197	2,73E-01
Absent speech	HP:0001344	4,87E-01
Gastroesophageal reflux	HP:0002020	7,87E-02
EEG with focal epileptiform discharges	HP:0011185	9,45E-02
Neurodevelopmental abnormality	HP:0012759	1,32E+00
Generalized hypotonia	HP:0001290	3,01E-01
Abnormality of the cerebrum	HP:0002060	3,37E+00
Retinal degeneration	HP:0000546	3,65E+00
EEG with spike-wave complexes	HP:0010850	4,39E+00
Generalized tonic-clonic seizures	HP:0002069	5,91E-01
Abnormality of movement	HP:0100022	6,39E-02
Abnormality of forebrain morphology	HP:0100547	8,49E-03
Mental deterioration	HP:0001268	8,74E-03
Abnormal muscle physiology	HP:0011804	8,93E-02

Neurodevelopmental delay	HP:0012758	1,47E+01
Difficulty walking	HP:0002355	1,42E+02
Generalized clonic seizures	HP:0011169	1,68E+01
EEG with burst suppression	HP:0010851	1,68E+01
Uni- and bilateral multifocal epileptiform discharges	HP:0011190	2,13E+02
Generalized myoclonic seizures	HP:0002123	3,22E+01
Abnormality of skull size	HP:0000240	5,43E+02
Focal seizures, afebril	HP:0040168	6,85E+01
Absent thumbnail	HP:0012554	7,87E+01
Impairment in personality functioning	HP:0031466	1,54E+03
Reduced number of teeth	HP:0009804	2,98E+02
Abnormality of brain morphology	HP:0012443	3,07E+02
Atypical absence seizure	HP:0007270	5,51E+02
Abnormality of esophagus physiology	HP:0025270	6,97E+02
Episodic ataxia	HP:0002131	2,24E+03
Hypoplasia of the corpus callosum	HP:0002079	2,66E+03
Focal clonic seizures	HP:0002266	3,52E+04
Hyporeflexia	HP:0001265	3,69E+03
Abnormal number of teeth	HP:0006483	5,59E+04
Behavioral abnormality	HP:0000708	6,13E+02
Ataxia	HP:0001251	7,18E+04
Cognitive impairment	HP:0100543	8,93E+03
Abnormality of the musculature	HP:0003011	1,05E+05
Morphological abnormality of the central nervous system	HP:0002011	1,45E+05
Intellectual disability	HP:0001249	1,59E+05
Abnormality of coordination	HP:0011443	1,62E+04
Ureterocele	HP:0000070	1,86E+04
Gait disturbance	HP:0001288	1,93E+04
Abnormality of the stomach	HP:0002577	4,67E+04
Abnormality of the forehead	HP:0000290	5,35E+05
Focal motor seizure	HP:0011153	1,66E+06
Diffuse cerebral atrophy	HP:0002506	1,66E+06
Downslanted palpebral fissures	HP:0000494	3,11E+05
Abnormality of the musculature of the limbs	HP:0009127	3,86E+06
Absent fingernail	HP:0001817	3,91E+05
Abnormality of nervous system physiology	HP:0012638	8,21E+04
Abnormality of higher mental function	HP:0011446	8,53E+05
Infantile onset	HP:0003593	1,59E+07
Multifocal epileptiform discharges	HP:0010841	1,70E+07
Diffuse white matter abnormalities	HP:0007204	2,52E+06
Abnormality of nervous system morphology	HP:0012639	4,72E+07
Muscle weakness	HP:0001324	5,58E+06

Nonconvulsive status epilepticus	HP:0031475	6,23E+06
Obtundation status	HP:0011151	6,23E+06
Abnormal aggressive, impulsive or violent behavior	HP:0006919	8,95E+06
Failure to thrive	HP:0001508	9,33E+06
Choreoathetosis	HP:0001266	1,44E+08
Abnormal emotion/affect behavior	HP:0100851	1,47E+08
Functional motor deficit	HP:0004302	1,53E+08
Broad phalanx of the toes	HP:0010174	1,78E+07
Optic atrophy	HP:0000648	2,13E+07
Neurological speech impairment	HP:0002167	4,48E+08
Feeding difficulties	HP:0011968	4,55E+07
Slanting of the palpebral fissure	HP:0200006	9,89E+07
Reduced tendon reflexes	HP:0001315	1,25E+09
Abnormal reflex	HP:0031826	1,36E+09
Postnatal microcephaly	HP:0005484	1,42E+09
Aplasia/Hypoplasia of the corpus callosum	HP:0007370	1,79E+09
Abnormality of the nervous system	HP:0000707	2,09E+09
Functional abnormality of the gastrointestinal tract	HP:0012719	2,17E+09
Inability to walk	HP:0002540	3,85E+09
Abnormality of the optic disc	HP:0012795	5,49E+08
Focal impaired awareness seizure	HP:0002384	6,43E+07
Cerebral visual impairment	HP:0100704	6,68E+08
Anonychia	HP:0001798	8,31E+08
Pediatric onset	HP:0410280	0.0000010866431380046973
Chorea	HP:0002072	0.0000011047748698566643
Self-injurious behavior	HP:0100716	0.0000013333957179318125
Generalized tonic-clonic seizures with focal onset	HP:0007334	0.000001405462028117515
Abnormality of the optic nerve	HP:0000587	0.0000030134140684698738
Abnormal skull morphology	HP:0000929	0.0000032309136991086956
Dystonia	HP:0001332	0.000003525322404071129
Abnormality of the palpebral fissures	HP:0008050	0.000004657019006072316
Abnormality of vision	HP:0000504	0.000006969036308060378
Cerebellar atrophy	HP:0001272	0.000010581062144824313
Abnormal involuntary eye movements	HP:0012547	0.000013662486611985704
Abnormality of eye movement	HP:0000496	0.000014908910474438181
Precocious puberty	HP:0000826	0.000018642224032166874
Clinical course	HP:0031797	0.000020690419789838836
Early onset of sexual maturation	HP:0100000	0.000024094429523113657

Renal dysplasia	HP:0000110	0.000024433962733048716
Abnormal social behavior	HP:0012433	0.00002780047411516283
Muscular hypotonia of the trunk	HP:0008936	0.00003389564748089413
Intellectual disability, profound	HP:0002187	0.000044561640695392786
Poor eye contact	HP:0000817	0.00004688935606250412
Ptosis	HP:0000508	0.00006338527271042144
Infantile muscular hypotonia	HP:0008947	0.00011102387195651209
Nystagmus	HP:0000639	0.00013835933135334202
Decreased body weight	HP:0004325	0.00015059220484602627
Abnormality of the cerebral cortex	HP:0002538	0.000226735947872441
Obsessive-compulsive trait	HP:0008770	0.0004753848271625796
Hemiclonic seizures	HP:0006813	0.0007161332583493835
Abnormal axial skeleton morphology	HP:0009121	0.0007797270044348838
Abnormality of prenatal development or birth	HP:0001197	0.0009623474010124287
Abnormality of the dentition	HP:0000164	0.000989483439060367
Abnormality of the phalanges of the toes	HP:0010161	0.0010853444164663276
Tibial torsion	HP:0100694	0.001091923034277988
Impaired social interactions	HP:0000735	0.0010931811642231062
Onset	HP:0003674	0.0013277117828464796
Abnormal eyelid morphology	HP:0000492	0.0014793718324012444
Broad finger	HP:0001500	0.0015116645599657311
EEG with focal sharp slow waves	HP:0011195	0.0021178733827257063
Generalized cerebral atrophy/hypoplasia	HP:0007058	0.0029536646815359426
Talipes valgus	HP:0004684	0.0029536646815359426
Broad phalanx	HP:0006009	0.0030773069316228957
Limited knee extension	HP:0003066	0.004527570834985307
Personality disorder	HP:0012075	0.004527570834985307
Broad long bones	HP:0005622	0.007071159091496729
Abnormal fundus morphology	HP:0001098	0.007436229441537907

Aplasia/Hypoplasia of the nails	HP:0008386	0.0075921578592090455
Abnormal posterior eye segment morphology	HP:0004329	0.007998574108627773
Abnormal ureter morphology	HP:0025633	0.008413178372740708
Abnormal oral morphology	HP:0031816	0.008870023932593516
Abnormal oral cavity morphology	HP:0000163	0.008870023932593516
Abnormality of digestive system morphology	HP:0025033	0.010341764853211624
Morphological abnormality of the gastrointestinal tract	HP:0012718	0.010341764853211624
Abdominal symptom	HP:0011458	0.010885268572822371
Abnormal retinal morphology	HP:0000479	0.011211945276910463
Abnormality of the mouth	HP:0000153	0.01132546881104001
Pachygyria	HP:0001302	0.013864597265824863
Sloping forehead	HP:0000340	0.017677897706793035
Abnormality of the orbital region	HP:0000315	0.024352162466748997
Abnormality of body weight	HP:0004323	0.02470606526250116
Abnormal ocular adnexa morphology	HP:0030669	0.027141762426002535
Abnormal eye physiology	HP:0012373	0.028836887698030153
Abnormality of the ocular adnexa	HP:0032039	0.03837556996108587
Short finger	HP:0009381	0.03863575379255905

Tabla 6: Fenotipos asociados a la lista de genes asociados a las diferentes EIEE.

- **Redes de interacción a partir de los genes comunes por cluster.**

- Cluster 3

Gene	Score	Description
APOE		apolipoprotein E
LDLRAP1	0,54	low density lipoprotein receptor adaptor protein 1
LIPC	0,4	lipase C, hepatic type
APOA5	0,37	apolipoprotein A5
LDLR	0,33	low density lipoprotein receptor
APOA4	0,3	apolipoprotein A4
APOC2	0,24	apolipoprotein C2
APOA1	0,22	apolipoprotein A1
CNTF	0,21	ciliary neurotrophic factor
APOC3	0,2	apolipoprotein C3
APOA2	0,17	apolipoprotein A2
APOC1	0,17	apolipoprotein C1
APP	0,15	amyloid beta precursor protein
VLDLR	0,14	very low density lipoprotein receptor
LPL	0,11	lipoprotein lipase
APOB	0,11	apolipoprotein B
PLTP	0,1	phospholipid transfer protein
HSPG2	0,1	heparan sulfate proteoglycan 2
LRP1	0,09	LDL receptor related protein 1
LCK	0,08	LCK proto-oncogene, Src family tyrosine kinase
SCARB1	0,08	scavenger receptor class B member 1

Tabla 7: Genes de la red de interacción de la Figura 1.

- Cluster 5

Gene	Score	Description
CD14		CD14 molecule
LBP	0,56	lipopolysaccharide binding protein
LY86	0,48	lymphocyte antigen 86
CD180	0,48	CD180 molecule
TLR4	0,29	toll like receptor 4

TLR2	0,24	toll like receptor 2
LY96	0,23	lymphocyte antigen 96
TLR6	0,16	toll like receptor 6
SFTPA1	0,1	surfactant protein A1
EHHADH	0,08	enoyl-CoA, hydratase/3-hydroxyacyl CoA dehydrogenase
SULT1A1	0,08	sulfotransferase family 1A member 1
VCAN	0,08	versican
TLR3	0,07	toll like receptor 3
BGN	0,07	biglycan
EIF2AK2	0,06	eukaryotic translation initiation factor 2 alpha kinase 2
TOLLIP	0,06	toll interacting protein
TIRAP	0,06	toll-interleukin 1 receptor (TIR) domain containing adaptor protein
C3AR1	0,06	complement component 3a receptor 1
TLR9	0,06	toll like receptor 9
TLR1	0,06	toll like receptor 1
SP2	0,05	Sp2 transcription factor

Tabla 8: Genes de la red de interacción de la Figura 2.

○ Cluster 8

Gene	Score	Description
MT-ATP6 (ATP6)		mitochondrially encoded ATP synthase 6
MT-ND6 (ND6)		mitochondrially encoded NADH:ubiquinone oxidoreductase core subunit 6
OPA1		OPA1, mitochondrial dynamin like GTPase
POLG		polymerase (DNA) gamma, catalytic subunit
C10orf2		chromosome 10 open reading frame 2
TULP1		tubby like protein 1
PAX6		paired box 6
RP2		retinitis pigmentosa 2 (X-linked recessive)
TRNAU1AP	1,3	tRNA selenocysteine 1 associated protein 1
MLANA	1,29	melan-A
NOC2L	1,2	NOC2 like nucleolar associated transcriptional repressor
IMPG1	1,13	interphotoreceptor matrix proteoglycan 1
KHDC1	1,11	KH homology domain containing 1
WIF1	1,1	WNT inhibitory factor 1
CRYBB2	1,08	crystallin beta B2
NCK1	1,07	NCK adaptor protein 1
UNC119	1,03	unc-119 lipid binding chaperone

BCOR	1,02	BCL6 corepressor
TRMT1	1,02	tRNA methyltransferase 1
GUCA1A	0,99	guanylate cyclase activator 1A
RDH8	0,99	retinol dehydrogenase 8 (all-trans)
PDE6B	0,99	phosphodiesterase 6B
INPP5K	0,98	inositol polyphosphate-5-phosphatase K
TRPM3	0,97	transient receptor potential cation channel subfamily M member 3
GABRR1	0,97	gamma-aminobutyric acid type A receptor rho1 subunit
PPEF2	0,96	protein phosphatase with EF-hand domain 2
MPP4	0,96	membrane palmitoylated protein 4
CRYBA1	0,95	crystallin beta A1

Tabla 9: Genes de la red de interacción de la Figura 3.

○ Cluster 9

Gene	Score	Description
VDR		vitamin D (1,25-dihydroxyvitamin D3) receptor
BAG1	0,23	BCL2 associated athanogene 1
LEF1	0,16	lymphoid enhancer binding factor 1
TOB2	0,12	transducer of ERBB2, 2
TRIM24	0,12	tripartite motif containing 24
RXRA	0,11	retinoid X receptor alpha
HR	0,1	hair growth associated
SMAD4	0,08	SMAD family member 4
BAZ1B	0,08	bromodomain adjacent to zinc finger domain 1B
NFKBIA	0,08	NFKB inhibitor alpha
RXRG	0,08	retinoid X receptor gamma
RELB	0,07	RELB proto-oncogene, NF-kB subunit
TOP2B	0,07	topoisomerase (DNA) II beta
ACTL6A	0,07	actin like 6A
CPS1	0,06	carbamoyl-phosphate synthase 1
CHAF1A	0,06	chromatin assembly factor 1 subunit A
CPT1A	0,05	carnitine palmitoyltransferase 1A
RARG	0,04	retinoic acid receptor gamma
CDK7	0,04	cyclin dependent kinase 7
THRAP3	0,04	thyroid hormone receptor associated protein 3
NCOA2	0,04	nuclear receptor coactivator 2

Tabla 10: Genes de la red de interacción de la Figura 4.

○ Cluster 10

Gene	Score	Description
IL6		interleukin 6
IL1B		interleukin 1 beta
TNF		tumor necrosis factor
TNFRSF1A	0,63	tumor necrosis factor receptor superfamily member 1A
MAP3K3	0,6	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 3
HRH1	0,58	histamine receptor H1
IL6R	0,54	interleukin 6 receptor
IL1R1	0,48	interleukin 1 receptor type 1
A2M	0,37	alpha-2-macroglobulin
SQSTM1	0,34	sequestosome 1
CEBPA	0,34	CCAAT/enhancer binding protein alpha
TNFRSF1B	0,23	tumor necrosis factor receptor superfamily member 1B
ZBTB16	0,22	zinc finger and BTB domain containing 16
CXCL8	0,22	C-X-C motif chemokine ligand 8
CASP1	0,21	caspase 1
MAPK8IP2	0,2	mitogen-activated protein kinase 8 interacting protein 2
TNFAIP3	0,18	TNF alpha induced protein 3
XBP1	0,17	X-box binding protein 1
IL1RN	0,17	interleukin 1 receptor antagonist
IL1R2	0,17	interleukin 1 receptor type 2
NFKBIA	0,17	NFkB inhibitor alpha
NFKBIZ	0,17	NFkB inhibitor zeta
IL1RAP	0,17	interleukin 1 receptor accessory protein

Tabla 11: Genes de la red de interacción de la Figura 5.

○ Cluster 11

Gene	Score	Description
BDNF		brain derived neurotrophic factor
NTF4	0,86	neurotrophin 4
NTF3	0,47	neurotrophin 3
NTRK2	0,42	neurotrophic receptor tyrosine kinase 2
EHD4	0,4	EH domain containing 4
MMP3	0,18	matrix metalloproteinase 3
GIPC1	0,13	GIPC PDZ domain containing family member 1

ZNF274	0,12	zinc finger protein 274
PLG	0,11	plasminogen
MMP7	0,11	matrix metalloproteinase 7
DYNLT1	0,11	dynein light chain Tctex-type 1
SORT1	0,11	sortilin 1
MAP2K5	0,09	mitogen-activated protein kinase kinase 5
CPE	0,08	carboxypeptidase E
NGF	0,08	nerve growth factor
NTRK1	0,08	neurotrophic receptor tyrosine kinase 1
ADAM17	0,08	ADAM metalloproteinase domain 17
CASP6	0,07	caspase 6
SHC2	0,06	SHC adaptor protein 2
NGFR	0,06	nerve growth factor receptor
NOS3	0,04	nitric oxide synthase 3

Tabla 12: Genes de la red de interacción de la Figura 6.

9. CURRICULUM VITAE

Datos personales

Nombre y apellidos: Isabel Trigo Pérez.

Fecha de nacimiento: 24 de mayo de 1996.

Correo electrónico:

itp00005@red.ujaen.es

isaty_t24@hotmail.com (Personal).



Formación académica.

2008-2012: Educación Secundaria Obligatoria. Colegio Inmaculada Concepción La Salle, Andújar (Jaén). Nota media: Sobresaliente.

2012-2014: Bachillerato de Ciencias de la Salud. I.E.S. Nuestra Señora de la Cabeza, Andújar (Jaén). Nota media: 7,119.

2014: Selectividad. Universidad de Jaén (Jaén). Nota: 8,669.

2014-2018: Grado en Biología. Facultad de Ciencias Experimentales. Universidad de Jaén. Nota media: 7,7.

2018: Realización del Trabajo de Fin de Grado. Título: *Análisis y caracterización de RhoA y PKC-alfa en la Hemorragia Subaracnoidea mediante Biología de Sistemas*. En el departamento de Biología Celular. Tutor: Dr. Francisco José Esteban Ruiz (Universidad de Jaén) Cotutor: Dr. Antonio Gonzalo Castellano Orozco (Instituto de Biomedicina de Sevilla). Nota: 9,6. Matrícula de Honor.

2019: Curso de Experto Universitario en “Biotecnología aplicada a la salud” impartido dentro del Programa de Formación en el Área de Salud de la UNED.

2019: Curso experto universitario en “Genética Médica y Genómica” impartido por GENOTIPIA y la Universidad Católica de Murcia.

Comunicaciones y jornadas

2018: Comunicación oral en las II Jornadas de estadística como Herramienta Científica con el trabajo “*Análisis y caracterización de RhoA y PKC-alfa en la Hemorragia Subaracnoidea mediante Biología de Sistemas*”. Organizado por el Departamento de Estadística e Investigación Operativa y Escuela de Doctorado de la Universidad de Jaén. Del 12 al 14 de septiembre de 2018. Jaén.

2019: Comunicación oral en las II Jornadas Síndrome STXBP1. Organizado por la Asociación STXBP1. 19 de octubre de 2019. Centro de Referencia Estatal De atención a Personas con Enfermedades Raras y sus Familias. Burgos.

2020: Comunicación oral en las III Jornadas de estadística como Herramienta Científica con el trabajo “*Encefalopatía Epiléptica STXBP1: predictores computacionales y estadísticos de asociación genotipo/fenotipo*”. Organizado por el Departamento de Estadística e Investigación Operativa y Escuela de Doctorado de la Universidad de Jaén. Del 5 al 7 de febrero de 2020. Jaén.

Estancia de prácticas

Julio-Septiembre 2017: Realización de Prácticas Curriculares Externas e Alumno de Prácticas Curriculares Externas en Laboratorio 115, Fisiopatología Vascular, Dr. Antonio Gonzalo Castellano Orozco. IBIS. Sevilla. Calificación: 9,6. Sobresaliente.

Idiomas

Inglés. Nivel acreditado B2. Trinity College London.

Habilidades / Capacidades

Capacidad para recopilar y analizar información de diversas fuentes y áreas, así como para la preparación, exposición pública y defensa de trabajos, con capacidad crítica y autocrítica. Capacidad para convivir y trabajar en entornos multidisciplinares y en oficios donde la comunicación y el compromiso son primordiales.

Capacidad de análisis y síntesis.

Habilidad para aplicar la teoría a la práctica y trabajar de forma autónoma.

Iniciativa, perseverancia y espíritu emprendedor.

Sistemas operativos

Windows: nivel usuario.

Microsoft Office: nivel usuario.

AcqKnowledge, MyoNorm, Cytoscape y aplicaciones: nivel usuario.

Otros

Permiso de conducción clase B