



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Facultad de Ciencias Experimentales

Trabajo Fin de Grado

APLICACIÓN DE LA BIOLOGÍA DE SISTEMAS AL ESTUDIO DEL GEN STXBP1 Y SUS COMORBILIDADES

Alumno/a: Paula María Ruiz Real

Julio, 2021



UNIVERSIDAD
DE JAÉN



Trabajo Fin de Grado

APLICACIÓN DE LA BIOLOGÍA DE SISTEMAS AL ESTUDIO DEL GEN STXBP1 Y SUS COMORBILIDADES

Alumno/a: Paula María Ruiz Real

Jaén, Julio, 2021

ABSTRACT

Epileptic encephalopathies of infancy are a group of grave childhood diseases among which are found the one caused by variants of gene STXBP1. Some of the most common comorbidities involving the syndrome caused by this gene include epilepsy, intellectual disability, neurodevelopmental disorders and autism spectrum disorders. The aim of this work is to study the relationship between those diseases and gene STXBP1 by analyzing the genes associated to each disease from the perspective of Systems Biology. It has been recognized and analyzed the relationships between genes associated to each disease, as well as their connections with our main gene.

Key words: STXBP1 – Epileptic encephalopathy of infancy - Systems Biology – Genetic interactions – Biological networks

RESUMEN

Las encefalopatías epilépticas infantiles son un conjunto de graves enfermedades de la infancia entre las que encontramos la causada por variantes del gen STXBP1. Dentro de las comorbilidades más comunes en el síndrome causado por este gen encontramos la epilepsia, la discapacidad intelectual, los trastornos del neurodesarrollo y los trastornos del espectro autista. En este Trabajo Fin de Grado se pretende conocer la relación entre estas enfermedades y el gen STXBP1 mediante el análisis de los genes asociados a cada enfermedad bajo la perspectiva de la Biología de Sistemas. Se han logrado reconocer y analizar las relaciones existentes entre todos los genes asociados a estas enfermedades entre sí, así como las conexiones de estos con nuestro gen de interés.

Palabras clave: STXBP1 – Encefalopatía epiléptica infantil – Biología de Sistemas – Interacciones génicas – Redes biológicas

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	5
1.1. Encefalopatías epilépticas infantiles	5
1.2. Encefalopatías STXBP1	6
1.3. Gen STXBP1	6
1.4. Comorbilidades.....	7
1.5. Biología de Sistemas.....	8
2. OBJETIVOS.....	10
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
3.1. Obtención de datos	11
3.2. Redes biológicas	11
3.2.1. Interacción proteína – proteína	11
3.2.2. Análisis de las redes de asociación	12
3.3. Análisis de enriquecimiento funcional.....	12
3.4. Análisis del conjunto de genes	13
4. RESULTADOS.....	14
4.1. Comorbilidades.....	14
4.1.1. Obtención de datos.....	14
4.1.2. Redes de asociación proteína - proteína	16
4.1.3. Análisis de las redes de asociación	19
4.1.4. Análisis de enriquecimiento funcional	19
4.2. Genes comunes a todas las comorbilidades	23
4.2.1. Obtención de datos.....	23
4.2.2. Redes de asociación proteína – proteína.....	26
4.2.3. Análisis de las redes de asociación	27
4.2.4. Análisis de enriquecimiento funcional	27
5. DISCUSIÓN	30
6. CONCLUSIONES	32
7. BIBLIOGRAFÍA	33
8. ANEXO I	37

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Encefalopatías epilépticas infantiles

La epilepsia es un trastorno caracterizado por la aparición de crisis derivadas de una interrupción del normal funcionamiento cerebral. Estas crisis pueden manifestarse de diferentes formas en función de diversos factores como la zona cerebral donde comienza la crisis o la madurez del cerebro (Fisher *et al.*, 2005). Se define como Encefalopatía Epiléptica al trastorno en el cual la actividad epiléptica puede contribuir a graves deficiencias cognitivas y conductuales, y donde estas pueden empeorar con el paso del tiempo. Solo es adecuado hablar de encefalopatías epilépticas cuando es la epilepsia la causante del problema cognitivo, si lo causara otra patología no se debe emplear este término (Howell *et al.*, 2016).

Las encefalopatías epilépticas infantiles son un conjunto amplio y heterogéneo de diferentes encefalopatías epilépticas en edades tempranas. Existen diferentes tipos de crisis entre los pacientes con actividad epileptiforme en el electroencefalograma, los cuales pueden presentar también retraso en el desarrollo (McTague *et al.*, 2016). Existen varios síndromes considerados encefalopatías epilépticas infantiles: en el periodo neonatal se encuentran la encefalopatía mioclónica temprana y el síndrome de Ohtahara; en la infancia el síndrome de West, el síndrome de Dravet y la epilepsia de la infancia con crisis focales migratorias; y en niños de mayor edad el síndrome de Lennox-Gastaut, el síndrome de Landau-Kleffner y la encefalopatía epiléptica con punta onda continua durante el sueño (Auvin *et al.*, 2016).

Diversos factores están relacionados con la aparición de estas encefalopatías como las anomalías en la estructura cerebral o causas genéticas. En un gran número de casos, estas encefalopatías están causadas por alteraciones del gen SCN1A. En otros casos puede tratarse de variantes de PCDH19, CHD2, o SCN8A. En casos raros las causan GABRA1 y STXBP1 (Al Mehdi *et al.*, 2019; Helbig y Abou, 2016).

1.2. Encefalopatías STXBP1

En el 2008 se describieron por primera vez mutaciones de novo en STXBP1 en cinco pacientes que sufrían el síndrome de Ohtahara (Saito *et al.* 2008). Este trastorno, también conocido como encefalopatía epiléptica infantil temprana (EIEE), es una enfermedad grave que suele comenzar en los 3 primeros meses de vida del paciente. Está caracterizada por convulsiones tónicas y espasmos. (Stamberger *et al.*, 2016; Al Mehdi *et al.*, 2019). Más adelante se relacionó a este gen con otros tipos de encefalopatías epilépticas también infantiles como el Síndrome de West o el Síndrome de Lennox-Gastaut. El Síndrome de West afecta a niños de 3 a 12 meses y se caracteriza principalmente por espasmos y problemas en el desarrollo neurocognitivo. El Síndrome de Lennox-Gastaut, que afecta de los 2 a 6 años, lo caracterizan crisis de diversos tipos y retraso psicomotor (Al Mehdi *et al.*, 2019).

En general, los pacientes suelen presentar epilepsia, discapacidad intelectual y trastornos del movimiento, aunque no todos los pacientes presentan epilepsia, al contrario de lo que pudo parecer en un primer momento. Se han reportado casos en los que presentaban otro tipo de alteraciones como trastornos del espectro autista, sin haber padecido epilepsia en ningún momento de su vida (Uddin *et al.*, 2017; Murillo, 2019). Existen evidencias sobre la relación entre las diferentes variantes de este gen y los diferentes tipos y niveles de gravedad de las enfermedades que produce (O'Brien *et al.*, 2019).

1.3. Gen STXBP1

Desde su descripción en 2008, la presencia de mutaciones en el gen STXBP1 ha sido estudiada y relacionada con varios tipos de encefalopatías epilépticas infantiles. Existe una gran variabilidad en los tipos de enfermedades producidas por las variantes de STXBP1, incluyendo otros trastornos del neurodesarrollo, con o sin epilepsia (O'Brien *et al.*, 2019).

El gen STXBP1 se encuentra en el cromosoma nueve en posición 34.11. Contiene 20 exones. Codifica a la proteína de unión a la sintaxina1a (también conocida como MUNC18-1), una proteína de la familia SEC1. STXBP1 es expresado de forma generalizada por todo el cerebro y el neocórtex durante el desarrollo y el

periodo posnatal. Esta proteína tiene un papel importante en la liberación y fusión de las vesículas sinápticas (Stamberger *et al.*, 2016; O'Brien *et al.*, 2019).

STXBP1 tiene un papel fundamental en este proceso de liberación y fusión de las vesículas sinápticas al formar parte del complejo sináptico SNARE (Soluble N-éthylmaleimide-sensitive-factor Attachment protein REceptor). Este complejo está formado por la proteína sinaptobrevina de la vesícula sináptica y las proteínas presinápticas de membrana SNAP25 y las sintaxinas1a. Estas proteínas son las encargadas de unir a la vesícula sináptica a la membrana presináptica. Un mal funcionamiento de STXBP1 tras una mutación impedirá que esta se pueda unir a la sintaxina1, dejándola inactiva e imposibilitando que se forme correctamente el complejo SNARE. Al no hacerlo, se bloqueará el proceso de secreción de neurotransmisores inhibitorios, causando una hiperexcitación de las neuronas, la cual acaba provocando el episodio epiléptico (Al Mehdi *et al.*, 2019).

Entre todos los individuos afectados se han observado un amplio rango de variantes de este gen, la mayoría de novo, incluyendo mutaciones por desplazamiento del marco de lectura, con cambio de sentido, del lugar de splicing o sinsentido, junto a deleciones completas del gen o intragénicas. Está bien documentada la relación entre este gen y la encefalopatía, aunque no está claro si la patología surge de una pérdida de función o de la ganancia de una función patológica asociada a la agregación de STXBP1 mutadas. Dada la gran cantidad de variantes del gen, lo más probable es que se deba a una pérdida de función/mecanismo de haploinsuficiencia (Lanoue *et al.*, 2019).

1.4. Comorbilidades

Se define como comorbilidad a la existencia de más de una enfermedad en un mismo paciente. En la mayoría de encefalopatías epilépticas genéticas las comorbilidades en el neurodesarrollo son una característica principal de la enfermedad y no se consideran algo secundario derivado de la alteración cerebral producida por la actividad epileptiforme. Gracias a los estudios sobre los genes que causan estas enfermedades y sus fenotipos asociados, se consigue marcar las diferencias entre trastornos genéticos del neurodesarrollo y encefalopatías epilépticas genéticas (Helbig y Abou, 2016).

Para este trabajo se han escogido cuatro de las enfermedades y trastornos comórbidos más comunes a la encefalopatía epiléptica producida por STXBP1: epilepsia, discapacidad intelectual, trastornos del neurodesarrollo y trastornos del espectro autista.

La epilepsia (Epilepsy), como ya se ha definido, es un trastorno caracterizado principalmente por la aparición de convulsiones epilépticas recurrentes o espontáneas (Al Mehdi *et al.*, 2019). La discapacidad intelectual (Intellectual disability) se define como una serie de limitaciones en el funcionamiento intelectual y en el comportamiento adaptativo del individuo. Esta discapacidad se origina en el periodo de desarrollo, el cual está marcado hasta los 22 años (Tassé *et al.*, 2021). Los trastornos del neurodesarrollo (Neurodevelopmental disorders) son una serie de afecciones caracterizadas por problemas en la cognición, la comunicación, el comportamiento y en las habilidades motoras como resultado de un desarrollo anormal del cerebro (Mullin *et al.*, 2013). Los trastornos del espectro autista (Autism spectrum disorder) son un conjunto de trastornos bastante heterogéneo, pero que se pueden definir dentro de dos áreas principalmente: problemas en la comunicación social y comportamientos sensomotores limitados y repetitivos (Lord *et al.*, 2018).

1.5. Biología de Sistemas

La Biología de Sistemas es una disciplina en la que se utilizan modelos computacionales y matemáticos para estudiar sistemas biológicos. Otras disciplinas como la biología molecular estudian subsistemas mediante experimentos generalmente *in vitro*, mientras la Biología de Sistemas ofrece un acercamiento holístico al estudiar el sistema al completo (Nielsen, 2017). Tiene como objetivo estudiar todos los genes, sus transcripciones, proteínas y metabolitos, y sobre todo, las relaciones existentes entre estos. Las disciplinas asociadas a estas son las conocidas como “ómicas”: genómica, transcriptómica, proteómica y metabolómica, además de otras nuevas que siguen surgiendo (Delles y Husi, 2017). Generalmente estos estudios se consiguen mediante la creación de redes complejas, si bien no siempre se pueden representar procesos biológicos mediante la representación de redes habitual, donde los componentes se muestran en forma de nodos y las interacciones como las aristas (Eddy *et al.*, 2015).

La Biología de Sistemas supone una transición de la biología como ciencia cualitativa a una ciencia de datos. Esto es debido a la necesidad de poder analizar gran cantidad de información almacenada a lo largo del tiempo, para lo cual ha sido necesario un cambio en el modelo de estudio. Tradicionalmente, se comenzaría partiendo de una hipótesis la cual estaría contenida en un modelo cualitativo. Se comprobaría mediante la búsqueda de una respuesta de tipo “sí o no”. Tras la “revolución del genoma” se obtuvieron gran cantidad de nucleótidos secuenciados, junto con la posibilidad de medir de forma simultánea la expresión de un gran número de genes. Esto se consiguió mediante microarrays de ADN, actualmente mayormente realizados con RNA-seq. El modelo cualitativo debe entonces ser sustituido, ya que se necesita un modelo cuantitativo que pueda trabajar con los nuevos resultados numéricos. El modelo da lugar a predicciones falsables que pueden ser comparadas con resultados cuantitativos y dar lugar a un modelo teórico. El ciclo se puede repetir hasta generar un modelo que concuerde con los resultados obtenidos (Djordjevic *et al.*, 2019).

La finalidad de muchos de los estudios realizados en esta disciplina no siempre es resolver una meta concreta, muchas veces solo pretenden poder priorizar la medición de algunos parámetros concretos, la búsqueda de nuevas hipótesis o poder detectar patrones que solo sean observables al estudiar el sistema al completo. Habitualmente los modelos más efectivos son aquellos que parten del conocimiento obtenido desde la biología celular, ya sea mediante bibliografía o mediante colaboración directa con profesionales de este campo (Eddy *et al.*, 2015).

De esto derivan nuevas perspectivas para otras disciplinas, como por ejemplo la medicina. La conocida como Medicina P4 (personalizada, predictiva, preventiva y participatoria) surge de la posibilidad de poder integrar información obtenida de: experimentos de proteómica, experimentos de expresión de genes en microarrays, experimentos de genotipificación en microarrays y experimentos interactómicos, a la vez que información sobre fenotipo y epigenética. Cada paciente supone una nueva fuente de información para estos estudios, ofreciéndonos nuevas posibles estrategias para tratar cada enfermedad (Guzzi *et al.*, 2016).

2. OBJETIVOS

El objetivo principal de este Trabajo Fin de Grado es poder conocer y aplicar distintas herramientas de la Biología de Sistemas en el estudio de las comorbilidades asociadas a trastornos del gen STXBP1.

De este objetivo general derivan una serie de objetivos específicos:

- Conocer los genes asociados a cuatro de las principales enfermedades y trastornos comórbidos al síndrome STXBP1. Concretamente la epilepsia, la discapacidad intelectual, los trastornos en el neurodesarrollo y los trastornos del espectro autista.
- Aplicar herramientas de la Biología de Sistemas para conocer las relaciones existentes entre estos, así como analizarlas en base a diferentes parámetros.
- Conocer en qué procesos se ven implicados estos genes.
- Estudiar la relación existente entre el gen STXBP1 con estas cuatro enfermedades y trastornos comórbidos.
- Integrar diferentes conocimientos adquiridos a lo largo de Grado.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Obtención de datos

Para comenzar a trabajar, se determinaron los genes asociados a cada enfermedad/trastornos. Para ello se seleccionaron dos bases de datos. La primera utilizada fue DisGeNET, una plataforma que contiene listados de genes y variantes asociadas a enfermedades humanas. Esta utiliza como fuente repositorios revisados por expertos, catálogos GWAS, modelos animales y literatura científica. La otra plataforma fue la base de datos Gene del NCBI, en la que se seleccionaron los resultados para *Homo sapiens*.

Se buscaron las cuatro enfermedades: Epilepsy, Intellectual Disability, Neurodevelopmental Disorders y Autism Spectrum Disorders.

Posteriormente, con la finalidad de reducir el número de genes para poder trabajar con ellos, se utilizó la herramienta Venny 2.1.0. Esta proporciona diagramas de Venn. Gracias a estos pudimos obtener un listado que contenía los genes en común entre la lista procedente de DisGeNET y la de Gene del NCBI.

3.2. Redes biológicas

Una vez obtenido nuestro listado de genes para cada enfermedad/trastornos se procedió a buscar y analizar las interacciones existentes entre estos.

3.2.1. Interacción proteína – proteína

Existen muchas fuentes de información sobre la estructura y funciones de proteínas individuales, pero para poder componer un esquema del funcionamiento de estas dentro de la célula es necesario comprender sus conexiones entre ellas. Para obtener estos datos se utilizó STRING, una plataforma que recoge e integra muchas fuentes de información sobre interacciones proteína-proteína y complementa esta información con predicciones computacionales (Szklarczyk, D., *et al.*, 2019).

Introduciendo los listados de genes en esta plataforma computacional se generaron redes de asociación de proteínas. La red biológica está compuesta por nodos y aristas. Cada uno de los nodos representa a cada proteína y cada arista une

a las proteínas que interactúan en un determinado proceso biológico. Se obtuvo una red para cada listado correspondiente a una comorbilidad.

3.2.2. Análisis de las redes de asociación

Una vez generadas estas redes de asociación se importaron los ficheros a Cytoscape para poder analizarlas.

Cytoscape es un software de código abierto que nos permite visualizar cualquier sistema de componentes e interacciones moleculares, normalmente de tipo proteína-proteína, proteína-ADN o interacciones genéticas. Posee herramientas para poder realizar el análisis de diferentes parámetros (Shannon, P. *et al.*, 2003).

Nuestros parámetros a analizar son degree (grado de conectividad) y betweenness centrality (grado de intermediación). Degree hace referencia al número de aristas que inciden sobre un nodo determinado, mientras que betweenness centrality es un parámetro que nos sirve para determinar la importancia de un nodo concreto en nuestra red, ya que representa de cuántos procesos un determinado nodo se encuentra en mitad (Boccaletti *et al.*, 2006).

Una vez realizado el análisis de nuestras redes para cada enfermedad se utilizó uno de estos parámetros para seleccionar a nuestras proteínas de interés. Se aplicó el criterio en base al valor del parámetro degree: este debía ser mayor o igual a la suma de la media y el error estándar de la media multiplicado este último por 1,645.

3.3. Análisis de enriquecimiento funcional

Se realizó un análisis de enriquecimiento funcional (también conocido como análisis de sobrerrepresentación) a nuestros listados de genes. Con este conseguimos ver con qué procesos biológicos concretos están implicados nuestros genes de interés.

Para ello utilizamos la plataforma computacional g:Profiler, la cual incluye la herramienta g:GOSt empleada para este análisis. Para enfermedades humanas, la base de datos que utiliza esta plataforma procede de Human Phenotype Ontology. Se realizó un análisis para cada una de las enfermedades estudiadas.

3.4. Análisis del conjunto de genes

Tras el análisis en Cytoscape con la posterior exclusión en base al parámetro explicado se obtuvieron cuatro listados de genes que se estudió también en conjunto. Para ello se siguió un procedimiento muy similar al ya descrito.

Se realizó un diagrama de Venn con la herramienta Venny 2.1.0, el cual generó un listado de los genes coincidentes entre los cuatro listados. También se añadió un listado en el que solo se utilizaban tres de las cuatro comorbilidades estudiadas (epilepsia, discapacidad intelectual, trastornos del neurodesarrollo) al considerarlo de interés ya que este mostraba al gen STXBP1.

Después se generó una red de asociación de proteínas para cada listado utilizando el programa STRING. Estas redes fueron analizadas utilizando Cytoscape y se les aplicó el criterio ya descrito: el degree debía ser mayor o igual a la suma de la media y el error estándar de la media multiplicado este último por 1,645.

También se les realizó un análisis de enriquecimiento funcional a los listados de genes en común. De nuevo, utilizando la herramienta g:GOSt de la plataforma g:Profiler.

4. RESULTADOS

4.1. Comorbilidades

4.1.1. Obtención de datos

Mediante el uso de DisGeNET y de la base de datos Gene del NCBI se obtuvieron los listados de genes asociados a cada enfermedad. Para poder encontrar los genes que coincidían entre ambas se realizaron diagramas de Venn con la herramienta Venny 2.1.0. La lista de los genes coincidentes entre ambos resultados para cada enfermedad serán los datos de partida a analizar en este trabajo.

El diagrama de Venn para los genes asociados a la epilepsia muestra como la búsqueda en DisGeNET aportó 1214 resultados, en Gene del NCBI 718 y entre ambas se encontraron 433 genes coincidentes (Fig. 4.1).

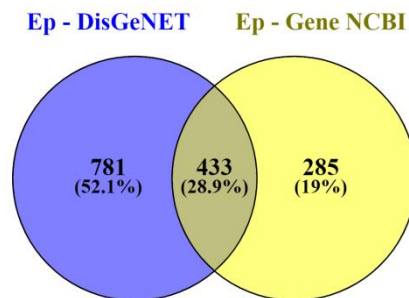


Figura 4.1. Diagrama de Venn que muestra el número de genes coincidentes entre los listados obtenidos de las bases de datos DisGeNET (izquierda) y Gene del NCBI (derecha) para la epilepsia (Ep – Epilepsy).

El diagrama de Venn para los genes asociados a la discapacidad intelectual muestra como la búsqueda en DisGeNET obtuvo 2165 resultados, en la base de datos Gene del NCBI 467 y entre ambas se encontraron 420 genes coincidentes (Fig. 4.2)

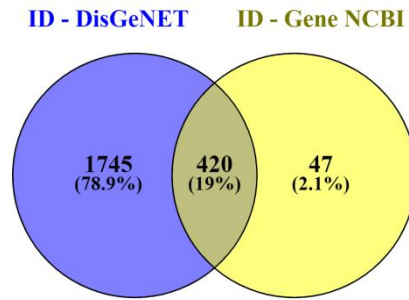


Figura 4.2. Diagrama de Venn que muestra el número de genes coincidentes entre los listados obtenidos de las bases de datos DisGeNET (izquierda) y Gene del NCBI (derecha) para la discapacidad intelectual (ID – Intellectual Disability).

El diagrama de Venn para los genes asociados a los trastornos del neurodesarrollo muestra como la búsqueda en DisGeNET aportó 535 resultados, la realizada en Gene del NCBI 173 y entre ambas se encontraron 98 genes coincidentes (Fig. 4.3).

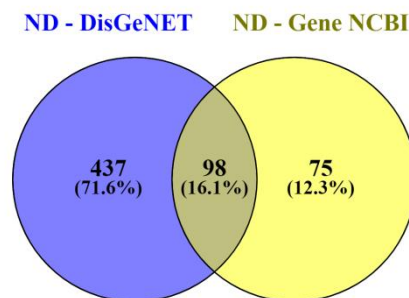


Figura 4.3. Diagrama de Venn que muestra el número de genes coincidentes entre los listados obtenidos de las bases de datos DisGeNET (izquierda) y Gene del NCBI (derecha) para los trastornos del neurodesarrollo (ND – Neurodevelopmental Disorders).

El diagrama de Venn para los genes asociados a los trastornos del espectro autista muestra como la búsqueda en DisGeNET aportó 1071 resultados, en Gene del NCBI 301 y entre ambas se encontraron 202 genes coincidentes (Fig. 4.4).

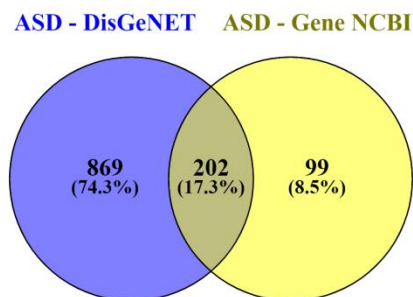


Figura 4.4. Diagrama de Venn que muestra el número de genes coincidentes entre los listados obtenidos de las bases de datos DisGeNET (izquierda) y Gene del NCBI (derecha) para los trastornos del espectro autista (ASD – Autism Spectrum Disorders).

En el Anexo I se encuentra la Tabla 4.1 que contiene el listado de genes que resultó de las coincidencias entre las dos bases de datos para cada enfermedad.

4.1.2. Redes de asociación proteína - proteína

Con los genes obtenidos para cada enfermedad se construyeron redes biológicas donde se establecieron las relaciones entre las proteínas. Para ello, se utilizó la plataforma computacional STRING. Las representaciones gráficas de estas redes nos muestran nodos para cada proteína y aristas para sus interacciones. Los nodos incluyen en su interior una imagen de la proteína en el caso de disponer de ella. Las aristas presentan diferente grosor en función al grado de confianza de cada interacción: bajo (0.150), medio (0.400), alto (0.700) y muy alto (0.900). La existencia de una conexión entre dos nodos muestra una asociación específica y significativa, lo cual no significa necesariamente que estas proteínas interactúen físicamente.

En el caso de no existir relación de ningún tipo para alguna proteína esta aparece como un nodo aislado y no se utilizará en análisis posteriores.

En la red biológica de las interacciones de las proteínas asociadas a la epilepsia (Fig. 4.5) se observan 418 nodos con 5107 conexiones en total. En el caso de la discapacidad intelectual (Fig. 4.6) la red presenta 414 nodos entre los cuales se muestran 2289 conexiones. La red de las proteínas asociadas a los trastornos del neurodesarrollo (Fig. 4.7) presenta 98 nodos entre los cuales se encontraron 416 conexiones. Por último, la red biológica para los trastornos del espectro autista (Fig. 4.8) muestra 198 nodos y 1760 conexiones entre estos en total.

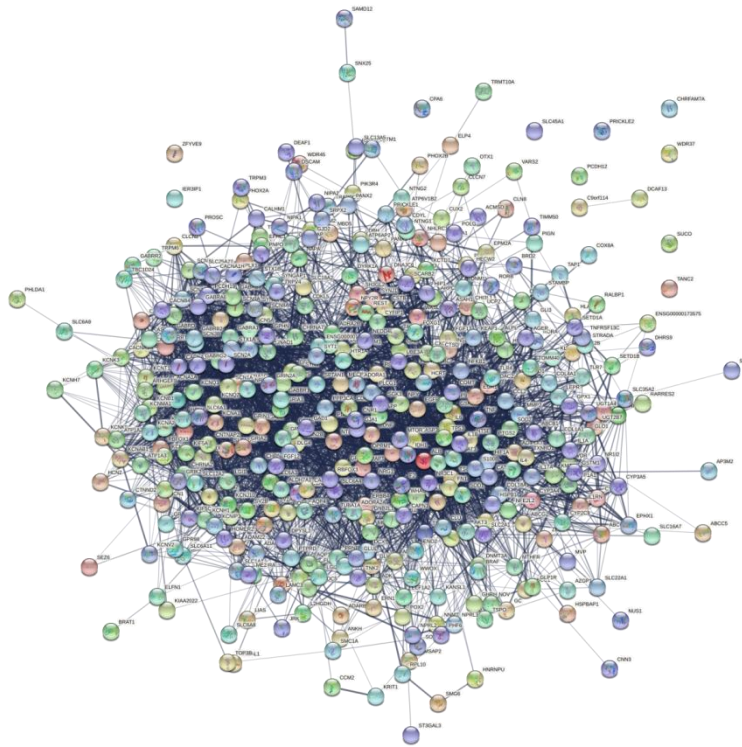


Figura 4.5. Red biológica donde se muestran las relaciones entre los 418 genes asociados a la epilepsia generada con la plataforma computacional STRING.

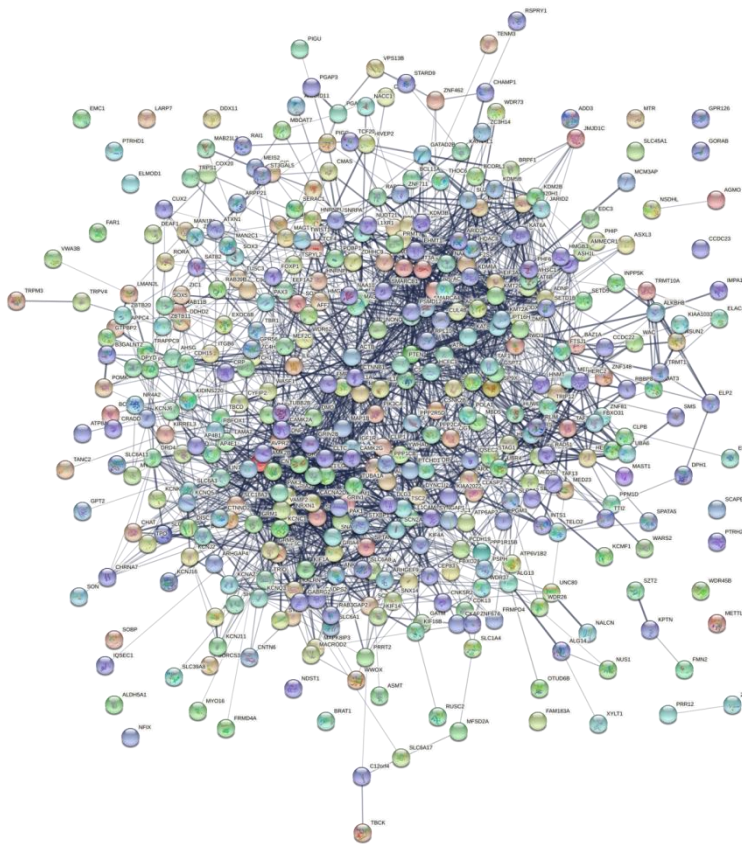


Figura 4.6. Red biológica donde se muestran las relaciones entre los 414 genes asociados a la discapacidad intelectual generada con la plataforma computacional STRING.

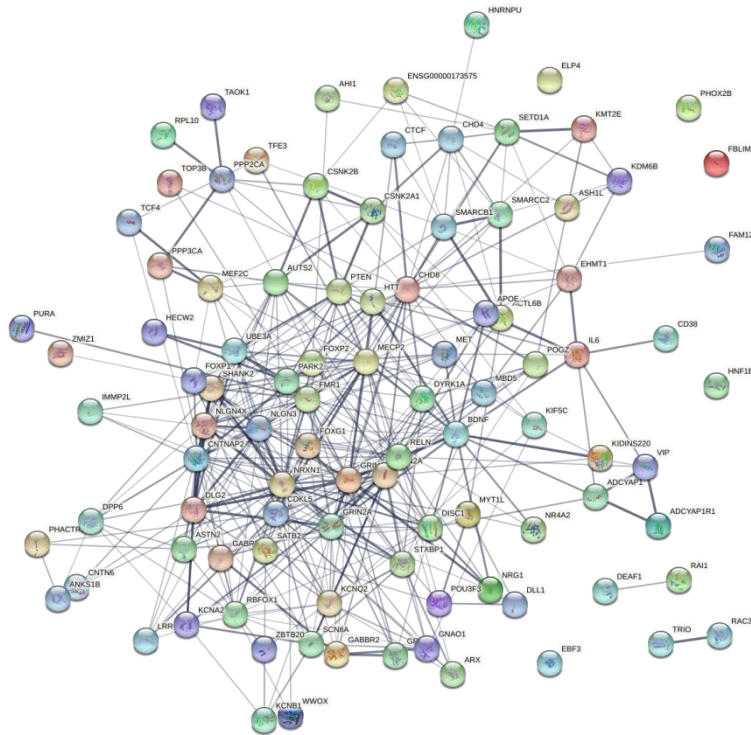


Figura 4.7. Red biológica donde se muestran las relaciones entre los 98 genes asociados a los trastornos del neurodesarrollo generada con la plataforma computacional STRING.

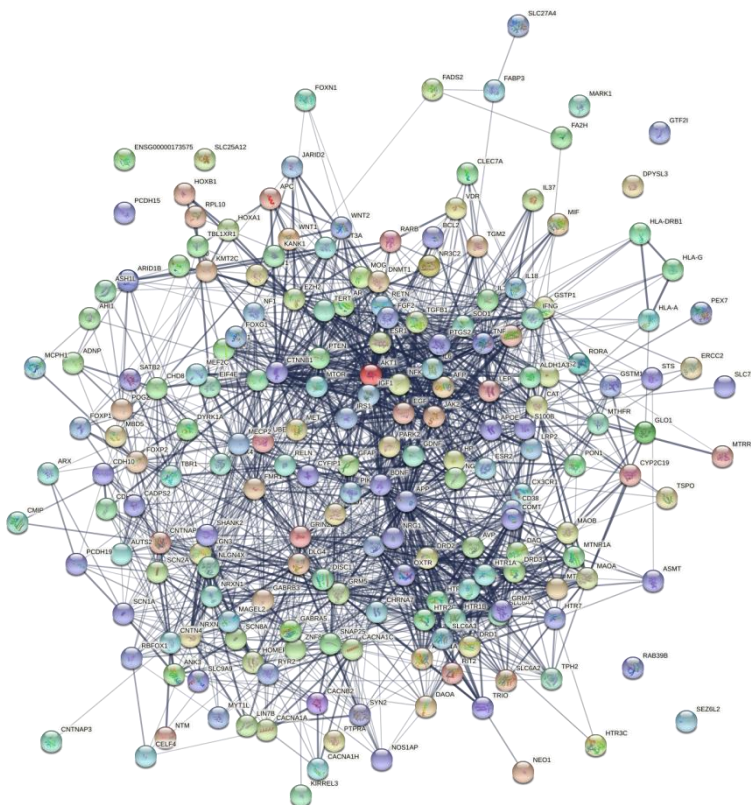


Figura 4.8. Red biológica donde se muestran las relaciones entre los 198 genes asociados a los trastornos del espectro autista generada con la plataforma computacional STRING.

4.1.3. Análisis de las redes de asociación

Las redes generadas con STRING se importaron a Cytoscape para su análisis. Estos nos mostraron diversos parámetros entre los que conservamos degree y betweenness centrality. En base al Degree se descartaron algunos genes: se conservaron aquellos en los cuales este era igual o superior a la suma de la media y el error estándar de la media multiplicado este último por 1,645.

En el Anexo I se encuentran las Tablas 4.2 y 4.3 que incluyen todos los genes ordenados en base a su degree de forma decreciente donde se han eliminado aquellos genes que no cumplían con el criterio explicado. También aparece el valor del betweenness centrality en el caso de ser un valor significativo aplicando el mismo criterio descrito para el degree pero en base a este otro parámetro.

4.1.4. Análisis de enriquecimiento funcional

Con el programa g:Profiler se obtuvieron los análisis de enriquecimiento funcional para los genes asociados a cada enfermedad gracias a la herramienta g:GOST.

Para cada enfermedad se muestra el diagrama de Manhattan (Fig. 4.9; Fig. 4.10; Fig. 4.11; Fig. 4.12): una representación de todos los resultados obtenidos en este análisis en los cuales se puede observar el alto número de resultados obtenido. Tras cada diagrama se muestran los diez primeros resultados referentes a función molecular (GO:MF), proceso biológico (GO:BP) y fenotipo humano (HP) (Tabla 4.4; Tabla 4.5; Tabla 4.6; Tabla 4.7).

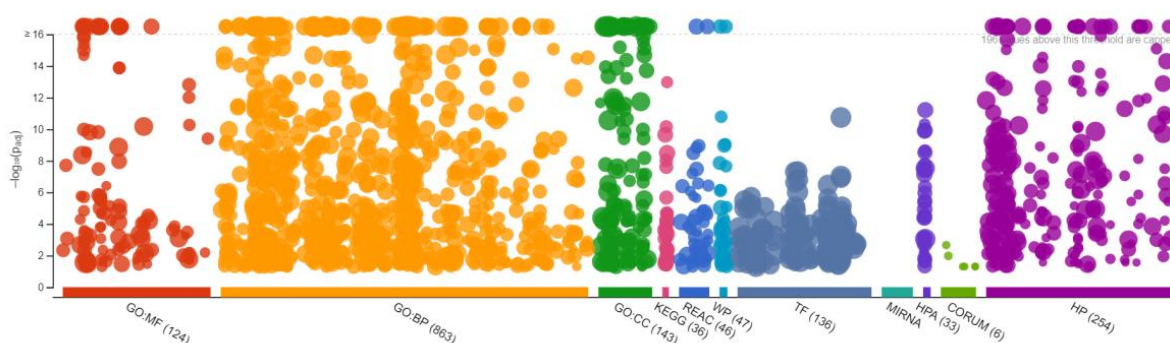


Figura 4.9. Diagrama de Manhattan del análisis de enriquecimiento funcional para los genes asociados a la epilepsia utilizando la plataforma computacional g:Profiler. Códigos de color: MF (función molecular, rojo), BP (proceso biológico, naranja), CC (componente celular, verde), KEGG (rosa), REAC (reactoma, azul oscuro), WP (WikiPtathways, azul claro), TF (transfac, azul grisáceo),

MIRNA (mirTarBase, azul verdoso), HPA (morado), CORUM (verde oliva) y HP (Ontología del fenotipo humano, rosa fucsia).

Tabla 4.4. Diez primeros resultados sobre función molecular, procesos biológicos y fenotipo humano procedentes del análisis de enriquecimiento funcional de los genes asociados a la epilepsia utilizando la plataforma computacional g:Profiler.

Genes asociados a epilepsia		
Función molecular	Proceso biológico	Fenotipo humano
Transmembrane transporter activity	Chemical synaptic transmission	EEG abnormality
Ion transmembrane transporter activity	Anterograde trans-synaptic signaling	Interictal EEG abnormality
Gated channel activity	Trans-synaptic signaling	Interictal epileptiform activity
Inorganic molecular entity transmembrane transporter activity	Synaptic signaling	Abnormality of central nervous system electrophysiology
Transporter activity	Cell-cell signaling	Bilateral tonic-clonic seizure
Passive transmembrane transporter activity	Ion transport	Abnormal nervous system electrophysiology
Channel activity	Regulation of biological quality	Focal-onset seizure
Metal ion transmembrane transporter activity	Regulation of membrane potential	Motor seizure
Inorganic cation transmembrane transporter activity	Regulation of transport	Status epilepticus
Ion channel activity	Ion transmembrane transport	EEG with generalized epileptiform discharges

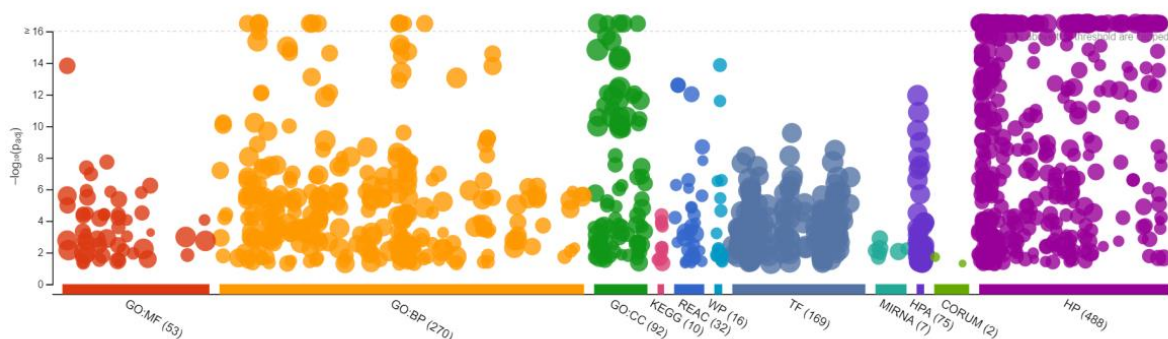


Figura 4.10. Diagrama de Manhattan del análisis de enriquecimiento funcional para los genes asociados a la discapacidad intelectual utilizando la plataforma computacional g:Profiler. Códigos de color: MF (función molecular, rojo), BP (proceso biológico, naranja), CC (componente celular, verde), KEGG (rosa), REAC (reactoma, azul oscuro), WP (WikiPathways, azul claro), TF (transfac, azul verdoso), HPA (morado), CORUM (verde oliva) y HP (Ontología del fenotipo humano, rosa fucsia).

grisáceo), MIRNA (mirTarBase, azul verdoso), HPA (morado), CORUM (verde oliva) y HP (Ontología del fenotipo humano, rosa fucsia).

Tabla 4.5. Diez primeros resultados sobre función molecular, procesos biológicos y fenotipo humano procedentes del análisis de enriquecimiento funcional de los genes asociados a la discapacidad intelectual utilizando la plataforma computacional g:Profiler.

Genes asociados a discapacidad intelectual		
Función molecular	Proceso biológico	Fenotipo humano
Chromatin binding	Nervous system development	Intellectual disability
Transferase activity, transferring one-carbon groups	Neuron projection development	Autistic behavior
Methyltransferase activity	Neurogenesis	Delayed speech and language development
S-adenosylmethionine-dependent methyltransferase activity	Generation of neurons	Language impairment
Metal ion transmembrane transporter activity	Neuron differentiation	Neurodevelopmental abnormality
N-methyltransferase activity	Neuron development	Neurodevelopmental delay
Histone-lysine N-methyltransferase activity	Head development	Abnormality of higher mental function
Histone methyltransferase activity	Cognition	Neurological speech impairment
DNA binding	Central nervous system development	Abnormality of skull size
Cation transmembrane transporter activity	Multicellular organism development	Global developmental delay

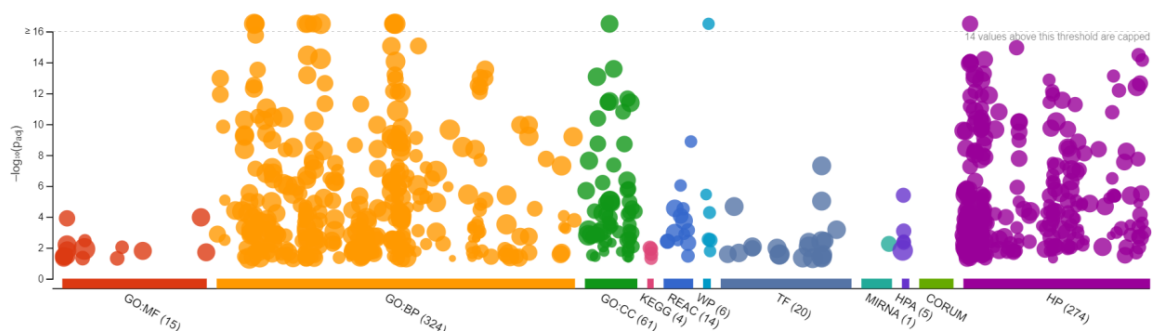


Figura 4.11. Diagrama de Manhattan del análisis de enriquecimiento funcional para los genes asociados a los trastornos del neurodesarrollo utilizando la plataforma computacional g:Profiler. Códigos de color: MF (función molecular, rojo), BP (proceso biológico, naranja), CC (componente celular, verde), KEGG (rosa), REAC (reactoma, azul oscuro), WP (WikiPathways, azul claro), TF

(transfac, azul grisáceo), MIRNA (mirTarBase, azul verdoso), HPA (morado), CORUM (verde oliva) y HP (Ontología del fenotipo humano, rosa fucsia).

Tabla 4.6. Diez primeros resultados sobre función molecular, procesos biológicos y fenotipo humano procedentes del análisis de enriquecimiento funcional de los genes asociados a los trastornos del neurodesarrollo utilizando la plataforma computacional g:Profiler.

Genes asociados a trastornos del neurodesarrollo		
Función molecular	Proceso biológico	Fenotipo humano
Transcription regulator activity	Nervous system development	Autistic behavior
Chromatin binding	Neuron differentiation	Self-injurious behavior
Beta-catenin binding	Generation of neurons	Abnormal aggressive, impulsive or violent behavior
DNA binding	System development	Stereotypy
Chromatin DNA binding	Multicellular organism development	Behavioral abnormality
Protein binding	Neurogenesis	Language impairment
Double-stranded DNA binding	Anatomical structure development	Delayed speech and language development
Sequence-specific DNA binding	Neuron development	Abnormal emotion/affect behavior
Sequence-specific double-stranded DNA binding	Neuron projection development	Sleep disturbance
Transcription cis-regulatory region binding	Developmental process	Seizure

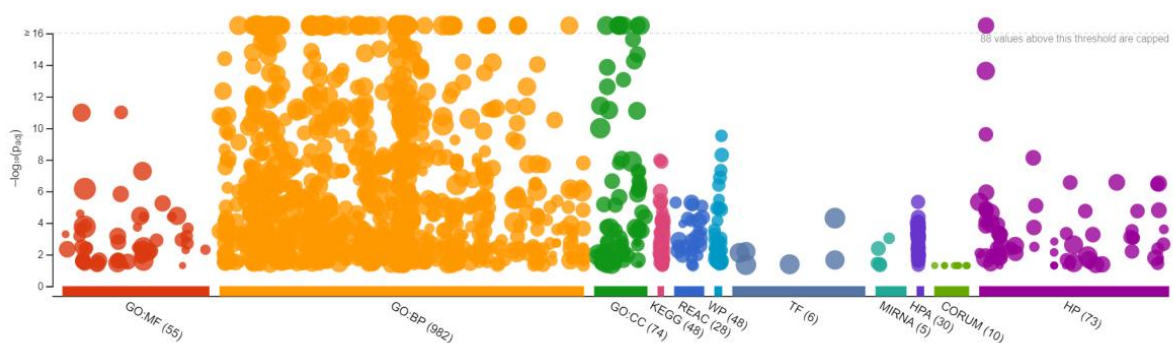


Figura 4.12. Diagrama de Manhattan del análisis de enriquecimiento funcional para los genes asociados a los trastornos del espectro autista utilizando la plataforma computacional g:Profiler. Códigos de color: MF (función molecular, rojo), BP (proceso biológico, naranja), CC (componente celular, verde), KEGG (rosa), REAC (reactoma, azul oscuro), WP (WikiPtathways, azul claro), TF (transfac, azul grisáceo), MIRNA (mirTarBase, azul verdoso), HPA (morado), CORUM (verde oliva) y HP (Ontología del fenotipo humano, rosa fucsia).

Tabla 4.7. Diez primeros resultados sobre función molecular, procesos biológicos y fenotipo humano procedentes del análisis de enriquecimiento funcional de los genes asociados a los trastornos del espectro autista utilizando la plataforma computacional g:Profiler.

Genes asociados a trastornos del espectro autista		
Función molecular	Proceso biológico	Fenotipo humano
Neurotransmitter receptor activity	Behavior	Autistic behavior
Signaling receptor binding	Nervous system development	Behavioral abnormality
Identical protein binding	Anterograde trans-synaptic signaling	Autism
Protein binding	Chemical synaptic transmission	Abnormal aggressive, impulsive or violent behavior
Signaling receptor activator activity	Cell-cell signaling	Self-injurious behavior
Receptor ligand activity	Synaptic signaling	Impairment in personality functioning
Dopamine neurotransmitter receptor activity	Trans-synaptic signaling	Abnormal emotion/affect behavior
Molecular transducer activity	System development	Dialectic seizure
Signaling receptor activity	Neurogenesis	Hyperactivity
Serotonin binding	Generation of neurons	Obsessive-compulsive behavior

4.2. Genes comunes a todas las comorbilidades

4.2.1. Obtención de datos

Una vez obtenidos los listados de genes para cada enfermedad se pretende encontrar los genes en común entre todos ellos pudiendo ver así qué genes están implicados en todas las comorbilidades. Utilizando la herramienta Venny 2.1.0 se generaron diagramas de Venn y se obtuvieron los listados de estos genes en común.

Entre los 146 genes asociados a la epilepsia, los 140 asociados a la discapacidad intelectual, los 27 asociados a los trastornos del neurodesarrollo y los 69 asociados a los trastornos del espectro autista el número de genes en común es 6 (Fig. 4.13).

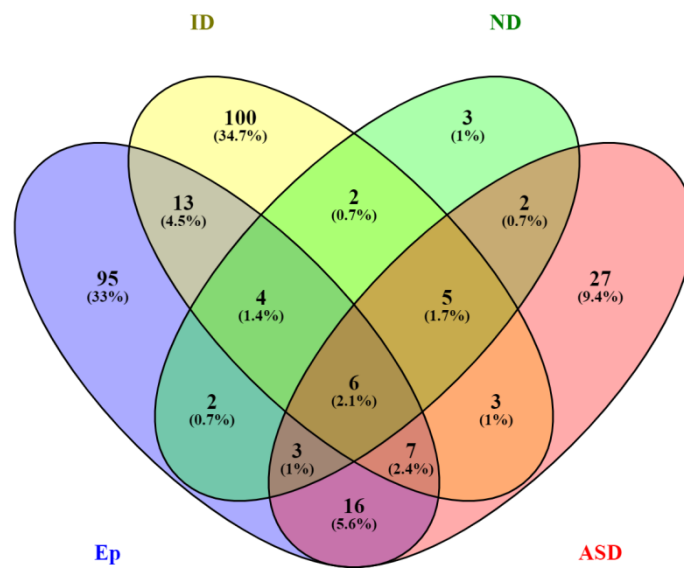


Figura 4.13. Diagrama de Venn que muestra el número de genes coincidentes entre los relacionados a las cuatro comorbilidades: epilepsia (Ep), discapacidad intelectual (ID), trastornos del neurodesarrollo (ND) y trastornos del espectro autista (ASD) generada con la herramienta Venny 2.1.0.

Tabla 4.8. Genes coincidentes entre los asociados a las cuatro comorbilidades: epilepsia, discapacidad intelectual, trastornos del neurodesarrollo y trastornos del espectro autista.

Genes asociados a las cuatro comorbilidades	
Símbolo	Nombre completo del gen
BDNF	Brain-derived neurotrophic factor
CNTNAP2	Contactin-associated protein-like 2
GRIN2B	Glutamate receptor ionotropic, NMDA 2B
MECP2	Methyl-CpG-binding protein 2
NRXN1	Neurexin-1
SCN2A	Sodium channel protein type 2 subunit alpha

Al no encontrar al gen STXBP1 entre las cuatro comorbilidades (Tabla 4.8) se decidió realizar otro diagrama para la epilepsia, discapacidad intelectual y trastornos del neurodesarrollo el cual mostró que existían 10 genes comunes (Fig. 4.14) y en el que sí encontramos STXBP1 (Tabla 4.9).

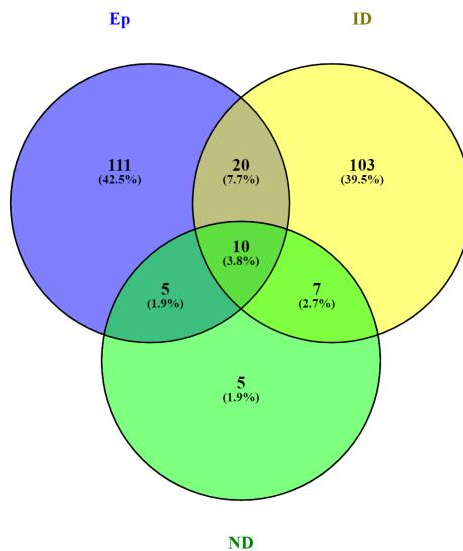


Figura 4.14. Diagrama de Venn que muestra el número de genes coincidentes entre los relacionados con tres de las cuatro comorbilidades: epilepsia (Ep), discapacidad intelectual (ID) y trastornos del neurodesarrollo (ND) generada con la herramienta Venny 2.1.0.

Tabla 4.9. Genes coincidentes entre los asociados a tres de las cuatro comorbilidades: epilepsia, discapacidad intelectual y trastornos del neurodesarrollo.

Genes asociados a tres de las cuatro comorbilidades	
Símbolo	Nombre completo del gen
BDNF	Brain-derived neurotrophic factor
CNTNAP2	Contactin-associated protein-like 2
GRIN2A	Glutamate receptor ionotropic, NMDA 2A
GRIN2B	Glutamate receptor ionotropic, NMDA 2B
MECP2	Methyl-CpG-binding protein 2
NRXN1	Neurexin-1
RBFOX1	RNA binding protein fox-1 homolog 1
SCN2A	Sodium channel protein type 2 subunit alpha
SCN8A	Sodium channel protein type 8 subunit alpha
STXBP1	Syntaxin-binding protein 1

4.2.2. Redes de asociación proteína – proteína

Los genes coincidentes fueron analizados en la plataforma computacional STRING. Primero se generó una red de asociación entre las proteínas asociadas a las cuatro comorbilidades y posteriormente una segunda red para aquellas asociadas a la epilepsia, discapacidad intelectual y los trastornos del neurodesarrollo.

Para los genes coincidentes entre las cuatro comorbilidades se obtuvo una red con 6 nodos y 13 conexiones en total (Fig. 4.15).

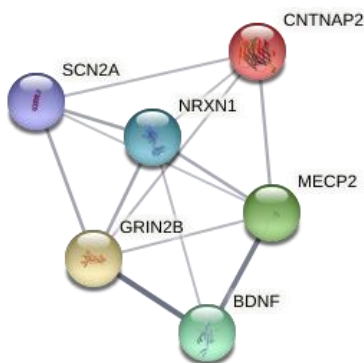


Figura 4.15. Red biológica donde se muestran las relaciones entre los 6 genes asociados a las cuatro comorbilidades (epilepsia, discapacidad intelectual, trastornos del neurodesarrollo y trastornos del espectro autista) generada con la plataforma computacional STRING.

En la red generada para tres de las cuatro comorbilidades, excluyendo los trastornos del espectro autista (Fig. 4.16) se observan 10 nodos y 34 conexiones.

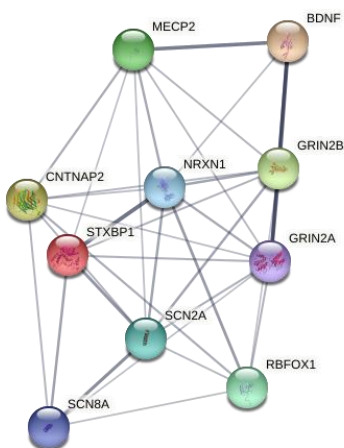


Figura 4.16. Red biológica donde se muestran las relaciones entre los 6 genes asociados a tres de las cuatro comorbilidades (epilepsia, discapacidad intelectual y trastornos del neurodesarrollo) generada con la plataforma computacional STRING.

4.2.3. Análisis de las redes de asociación

Las redes generadas con STRING fueron analizadas utilizando el programa Cytoscape. Se descartaron aquellos genes donde no se encontraron relaciones significativas utilizando el mismo criterio en base al degree descrito anteriormente.

Los genes con relaciones significativas asociados a las cuatro comorbilidades son tres: NRXN1, MECP2 y GRIN2B (Tabla 4.10). En el caso de excluir a los trastornos del espectro autista encontramos cuatro genes: GRIN2A, NRXN1, GRIN2B y SCN2A (Tabla 4.11).

Tabla 4.10. Degree y Betweenness Centrality de los genes coincidentes asociados a las cuatro enfermedades en los que se han encontrado diferencias significativas para el Degree.

Gen	Degree	Betweenness Centrality
NRXN1	5	0,067
MECP2	5	0,067
GRIN2B	5	0,067

Tabla 4.11. Degree y Betweenness Centrality de los genes coincidentes asociados a tres de las cuatro enfermedades (epilepsia, discapacidad intelectual y trastornos del neurodesarrollo) en los que se han encontrado diferencias significativas para el Degree.

Gen	Degree	Betweenness Centrality
GRIN2A	9	0,09166667
NRXN1	8	0,04583333
GRIN2B	8	0,04583333
SCN2A	8	No significativa

4.2.4. Análisis de enriquecimiento funcional

Con la herramienta g:GOST del programa g:Profiler se obtuvo el análisis de enriquecimiento funcional del conjunto de genes y del conjunto sin incluir los asociados al los trastornos del espectro autista por el motivo ya comentado. De nuevo, se obtuvieron diagramas de Manhattan para cada conjunto de genes (Fig. 4.17; Fig. 4.18) y un listado de los primeros diez resultados sobre función molecular (GO:MF), proceso biológico (GO:BP) y fenotipo humano (HP) (Tabla 4.12; Tabla 4.13). Para el conjunto asociado a todas las enfermedades (Tabla 4.12) no se

obtuvo resultado referente a función molecular y se obtuvo un solo resultado para fenotipo humano.

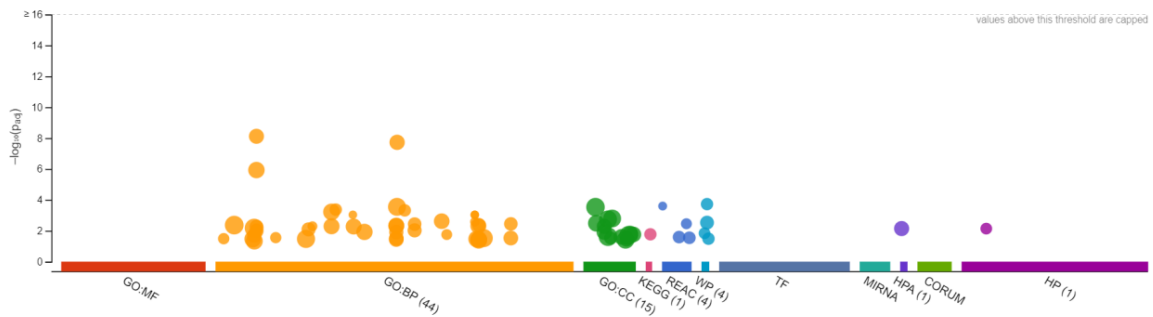


Figura 4.17. Diagrama de Manhattan del análisis de enriquecimiento funcional para los genes coincidentes asociados a las cuatro enfermedades utilizando la plataforma computacional g:Profiler. Códigos de color: MF (función molecular, rojo), BP (proceso biológico, naranja), CC (componente celular, verde), KEGG (rosa), REAC (reactoma, azul oscuro), WP (WikiPathways, azul claro), TF (transfac, azul grisáceo), MIRNA (mirTarBase, azul verdoso), HPA (morado), CORUM (verde oliva) y HP (Ontología del fenotipo humano, rosa fucsia).

Tabla 4.12. Diez primeros resultados sobre procesos biológicos y único resultado para fenotipo humano procedentes del análisis de enriquecimiento funcional de los genes asociados a las cuatro enfermedades utilizando la plataforma computacional g:Profiler.

Genes asociados a las cuatro enfermedades	
Proceso biológico	Fenotipo humano
Learning or memory	Hyperventilation
Cognition	
Behavior	
Nervous system process	
Social behavior	
Biological process involved in intraspecies interaction between organisms	
Cell junction organization	
Vocal learning	
Observational learning	
Imitative learning	

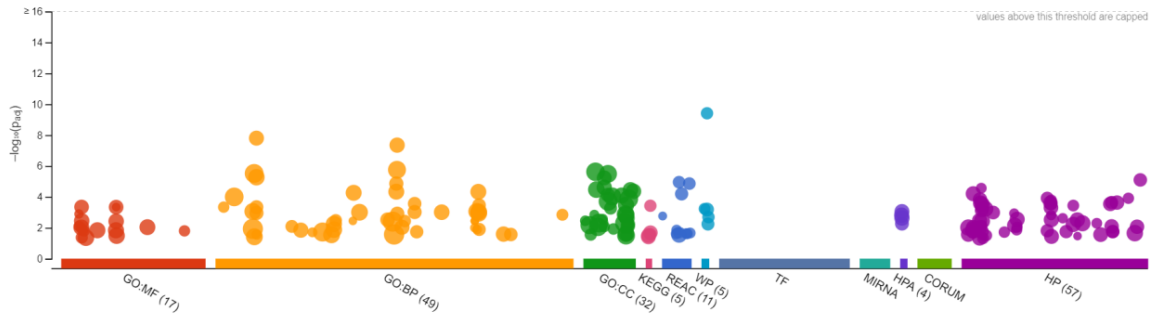


Figura 4.18. Diagrama de Manhattan del análisis de enriquecimiento funcional para los genes coincidentes asociados a tres de las cuatro comorbilidades (epilepsia, discapacidad intelectual y trastornos del neurodesarrollo) utilizando la plataforma computacional g:Profiler. Códigos de color: MF (función molecular, rojo), BP (proceso biológico, naranja), CC (componente celular, verde), KEGG (rosa), REAC (reactoma, azul oscuro), WP (WikiPathways, azul claro), TF (transfac, azul grisáceo), MIRNA (mirTarBase, azul verdoso), HPA (morado), CORUM (verde oliva) y HP (Ontología del fenotipo humano, rosa fucsia).

Tabla 4.13. Diez primeros resultados sobre función molecular, procesos biológicos y fenotipo humano procedentes del análisis de enriquecimiento funcional de los genes asociados a tres de las cuatro comorbilidades (epilepsia, discapacidad intelectual y trastornos del neurodesarrollo) utilizando la plataforma computacional g:Profiler.

Genes asociados a epilepsia, discapacidad intelectual y trastornos del neurodesarrollo		
Función molecular	Proceso biológico	Fenotipo humano
Voltage-gated ion channel activity	Learning or memory	Epileptic encephalopathy
Glutamate-gated calcium ion channel activity	Cognition	Focal clonic seizure
Voltage-gated channel activity	Nervous system process	Encephalopathy
NMDA glutamate receptor activity	Nervous system development	Generalized tonic seizure
Cation channel activity	Behavior	Limb myoclonus
Gated channel activity	Positive regulation of synaptic transmission	Generalized non-motor (absence) seizure
Ionotropic glutamate receptor activity	Modulation of chemical synaptic transmission	Generalized clonic seizure
Metal ion transmembrane transporter activity	Regulation of trans-synaptic signaling	Tonic seizure
Ion channel activity	Regulation of membrane potential	Non-motor seizure
Voltage-gated sodium channel activity	System process	Epileptic spasm

5. DISCUSIÓN

El principal objetivo de este Trabajo Fin de Grado es poder estudiar desde una perspectiva de la Biología de Sistemas la relación del gen STXBP1 con las principales enfermedades y trastornos comórbidos al síndrome causado por este. Para ello, las redes de asociación entre proteínas nos han mostrado las relaciones que existen entre los genes implicados en estas enfermedades y trastornos, así como su posterior análisis nos ha servido para conocer cuáles de estas son significativas. Por otra parte, los análisis de enriquecimiento funcional nos han permitido observar como estos genes se ven relacionados entre sí al formar parte de los mismos procesos biológicos.

El análisis de los genes implicados en las cuatro comorbilidades (epilepsia, discapacidad intelectual, trastornos en el neurodesarrollo y trastornos del espectro autista) y su posterior selección en base al degree aportó tres genes: NRXN1, MECP2 y GRIN2B. Estos genes se encuentran relacionados a casos clínicos similares a los que encontramos en variantes del gen STXBP1. Trastornos de la proteína NRXN1 se relacionan con enfermedades neurológicas de desórdenes del ciclo de las vesículas sinápticas, de la misma forma que lo hacen variantes de STXBP1 (John *et al.*, 2021). Variantes del gen MECP2 son las causantes del 95% de los casos de Síndrome de Rett, un trastorno caracterizado principalmente por un retraso en el desarrollo. En este mismo estudio, se buscó concluir qué genes se veían afectados en pacientes con este síndrome en los que no se detectaban anomalías en el gen MECP2. Se encontró una variante del gen STXBP1 por desplazamiento del marco de lectura, generando un caso clínico que, aunque algo diferenciado de los síntomas típicos del síndrome al haberlos desarrollado de forma más tardía, se enmarca dentro de este (Olson *et al.* 2015). GRIN2B es uno de los principales genes cuyas mutaciones de novo causan discapacidad intelectual. En esta lista encontramos otros genes entre los que aparece nuestro gen de interés STXBP1 (Hoyer *et al.*, 2012).

A pesar de señalarse como una de las principales comorbilidades, en las bases de datos utilizadas para este trabajo los trastornos del espectro autista no mostraron a STXBP1 como uno de los genes asociados a estos. Murillo señaló en un estudio que, a pesar de que investigaciones previas indiquen una prevalencia de

hasta un 17% de trastornos del espectro autista en niños con el síndrome STXBP1, en la muestra de su estudio solo contó con un caso diagnosticado. Sin embargo, comenta que muchos de los otros niños tienen poca iniciativa para comunicarse, siendo su entorno el que debe interpretar sus intenciones, y no existiendo estudios que expliquen a qué se debe este comportamiento (Murillo, 2019). Las diferencias en el diagnóstico unido a la variabilidad de síntomas que presenta nuestro gen pueden explicar su ausencia en las bases de datos referentes a esta enfermedad. Por este motivo, se decidieron analizar también los genes coincidentes entre las otras tres comorbilidades por separado: epilepsia, discapacidad intelectual y trastornos del neurodesarrollo, donde sí que se encuentra.

El análisis excluyendo los trastornos del espectro autista proporcionó un listado que inicialmente incluía al gen STXBP1. Tras su análisis y selección de aquellos con relaciones significativas, este no las presentaba, siendo excluido de la lista definitiva, en la que quedaron cuatro genes: los ya mencionados NRXN1 y GRIN2B y dos nuevos: SCN2A y GRIN2A.

De la misma forma que los anteriores, estos dos genes se encuentran relacionados con nuestro gen de interés en tanto que dan lugar a casos clínicos similares. SCN2A es un gen asociado a varios tipos de encefalopatías epilépticas infantiles como el síndrome de Dravet o el de West (Liu *et al.*, 2021). GRIN2A también se relaciona con encefalopatías epilépticas infantiles como el síndrome de Landau-Kleffner (Allen *et al.*, 2016).

Por lo tanto, aunque no se han hallado evidencias directas de las conexiones entre las proteínas de nuestro estudio con la de nuestro gen de interés, proponemos que, en cualquier caso, directa o indirectamente, estos se encuentran relacionados, ya que sus variantes generan trastornos similares. Esto podría deberse a varios motivos: desde que las plataformas computacionales utilizadas no contaran con información acerca de estas conexiones hasta que estas, aun existiendo, no hayan sido detectadas de forma significativa aún. Para poder determinar con exactitud las relaciones entre estos diferentes genes es necesario que se realicen más estudios que puedan aportar datos para su estudio en conjunto desde la perspectiva de la Biología de Sistemas.

6. CONCLUSIONES

- Se ha demostrado la utilidad de las herramientas de la Biología de Sistemas para poder conocer las relaciones que existen entre diferentes genes así como para analizar estas conexiones. También se ha observado la utilidad de los análisis de enriquecimiento funcional para poder conocer en qué procesos se ven implicados.
- Se ha comprobado la relación existente entre el gen STXBP1 con sus principales enfermedades y trastornos comórbidos: la epilepsia, la discapacidad intelectual, los trastornos en el neurodesarrollo y los trastornos del espectro autista.
- Se han reconocido los genes entre los que existen relaciones significativas para el conjunto de las enfermedades, así como la relación entre estos y el gen STXBP1.
- Se ha constatado la necesidad de que surjan futuras investigaciones que aporten datos que puedan ser utilizados en estudios abordados desde la perspectiva de la Biología de Sistemas.
- Este trabajo ha permitido la integración de diferentes conocimientos adquiridos a lo largo del Grado.

7. BIBLIOGRAFÍA

- AL MEHDI, K., FOUAD, B., ZOUHAIR, E., BOUTAINA, B., YASSINE, N., CHAIMAA, A., NAJAT, S., HASSAN, R., RACHIDA, R., ABDELHAMID, B., y HALIMA, N. (2019): “Molecular Modelling and Dynamics Study of nsSNP in STXBP1 Gene in Early Infantile Epileptic Encephalopathy Disease”, *Biomed Research International*, 2019, pp. 1-14.
- ALLEN, N. M., CONROY, J., SHAHWAN, A., LYNCH, B., CORREA, R. G., PENA, S. D., MCCREARY, D., MAGALHÃES, T. R., ENNIS, S., LYNCH, S. A., y KING, M. D. (2016): “Unexplained early onset epileptic encephalopathy: Exome screening and phenotype expansion”, *Epilepsia*, 57(1), pp. e12–e17.
- AUVIN, S., CILIO, M. AND VEZZANI, A. (2016): “Current understanding and neurobiology of epileptic encephalopathies”, *Neurobiology Of Disease*, 92, pp. 72-89.
- BOCCALETTI, S., LATORA, V., MORENO, Y., CHAVEZ, M. y HWANG, D.U. (2006): “Complex networks: Structure and dynamics”, *Physics Reports*, 424, pp. 175-308.
- DELLES, C. y HUSI, H. (2017): “Systems Biology Approach in Hypertension Research”, *Methods in Molecular Biology*, 1527, pp. 69-79.
- DJORDJEVIC, M., RODIC, A., y GRAOVAC, S. (2019): “From biophysics to 'omics and systems biology”, *European biophysics journal*, 48(5), pp. 413–424.
- EDDY, J. A., FUNK, C. C., y PRICE, N. D. (2015): “Fostering synergy between cell biology and systems biology”, *Trends in cell biology*, 25(8), pp. 440–445.
- FISHER, R. S., VAN EMDE BOAS, W., BLUME, W., ELGER, C., GENTON, P., LEE, P., y ENGEL, J., JR (2005): “Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE)”, *Epilepsia*, 46(4), pp. 470–472.
- GUZZI, P. H., AGAPITO, G., MILANO, M., y CANNATARO, M. (2016): “Methodologies and experimental platforms for generating and analysing microarray and mass spectrometry-based omics data to support P4 medicine”, *Briefings in bioinformatics*, 17(4), pp. 553–561.

- HELBIG, I. y ABOU TAYOUN, A. (2016): "Understanding Genotypes and Phenotypes in Epileptic Encephalopathies", *Molecular Syndromology*, 7(4), pp. 172-181.
- HOWELL, K. B., HARVEY, A. AND ARCHER, J. S. (2016): "Epileptic encephalopathy: Use and misuse of a clinically and conceptually important concept", *Epilepsia*, 57(3), pp. 343-347.
- HOYER, J., EKICI, A. B., ENDELE, S., POPP, B., ZWEIER, C., WIESENER, A., WOHLLEBER, E., DUFKE, A., ROSSIER, E., PETSCH, C., ZWEIER, M., GÖHRING, I., ZINK, A. M., RAPPOLD, G., SCHRÖCK, E., WIECZOREK, D., RIESS, O., ENGELS, H., RAUCH, A., y REIS, A. (2012): "Haploinsufficiency of ARID1B, a member of the SWI/SNF-a chromatin-remodeling complex, is a frequent cause of intellectual disability", *American journal of human genetics*, 90(3), pp. 565–572.
- JOHN, A., NG-CORDELL, E., HANNA, N., BRKIC, D., y BAKER, K. (2021): "The neurodevelopmental spectrum of synaptic vesicle cycling disorders", *Journal of neurochemistry*, 157(2), pp. 208–228.
- LANOUE, V., CHAI, Y., BROUILLET, J., WECKHUYSEN, S., PALMER, E., COLLINS, B. AND MEUNIER, F. (2019): "STXBP1 encephalopathy", *Neurology*, 93(3), pp. 114-123.
- LIU, X., SHEN, Q., ZHENG, G., GUO, H., LU, X., WANG, X., YANG, X., CAO, Z., y CHEN, J. (2021): "Gene and Phenotype Expansion of Unexplained Early Infantile Epileptic Encephalopathy", *Frontiers in neurology*, 12, pp. 633-637.
- LORD, C., ELSABBAGH, M., BAIRD, G., y VEENSTRA-VANDERWEELE, J. (2018): "Autism spectrum disorder", *The Lancet*, 392(10146), pp. 508–520.
- 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), pp. 304-316.
- MULLIN, A. P., GOKHALE, A., MORENO-DE-LUCA, A., SANYAL, S., WADDINGTON, J. L., y FAUNDEZ, V. (2013): "Neurodevelopmental disorders: mechanisms and boundary definitions from genomes, interactomes and proteomes", *Translational psychiatry*, 3(12), pp. e329.
- MURILLO, E. (2019): "Características de las personas con el síndrome STXBP1 en España: implicaciones para el diagnóstico", *Anales De Pediatría*, 44(2), pp. 71-78.

- NIELSEN J. (2017): "Systems Biology of Metabolism", *Annual Review of Biochemistry*, 86, pp. 245-275.
- O'BRIEN, S., NG-CORDELL, E., DDD STUDY, ASTLE, D. E., SCERIF, G., y BAKER, K. (2019): "STXBP1-associated neurodevelopmental disorder: a comparative study of behavioural characteristics", *Journal of neurodevelopmental disorders*, 11(1), pp. 17.
- OLSON, H.E., TAMBUNAN, D., LACOURSIERE, C., GOLDENBERG, M., PINSKY, R., MARTIN, E., HO, E., KHWAJA, O., KAUFMANN, W.E., y PODURI, A. (2015): "Mutations in epilepsy and intellectual disability genes in patients with features of Rett syndrome", *American journal of medical genetics, Part A*, 167A(9), pp. 2017–2025.
- SAITSU, H., KATO, M., MIZUGUCHI, T., HAMADA, K., OSAKA, H., TOHYAMA, J., URUNO, K., KUMADA, S., NISHIYAMA, K., NISHIMURA, A., OKADA, I., YOSHIMURA, Y., HIRAI, S., KUMADA, T., HAYASAKA, K., FUKUDA, A., OGATA, K., & MATSUMOTO, N. (2008): "De novo mutations in the gene encoding STXBP1 (MUNC18-1) cause early infantile epileptic encephalopathy", *Nature genetics*, 40(6), pp. 782–788.
- SHANNON, P., MARKIEL, A., OZIER, O., BALIGA, N. S., WANG, J. T., RAMAGE, D., AMIN, N., SCHWIKOWSKI, B., y IDEKER, T. (2003): "Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks", *Genome research*, 13(11), pp. 2498–2504.
- STAMBERGER, H., NIKANOROVA, M., WILLEMSSEN, M. H., ACCORSI, P., ANGRIMAN, M., BAIER, H., BENKEL-HERRENBRUECK, I., BENOIT, V., BUDETTA, M., CALIEBE, A., CANTALUPO, G., CAPOVILLA, G., CASARA, G., COURAGE, C., DEPRez, M., DESTRÉE, A., DILENA, R., ERASMUS, C. E., FANNEMEL, M., FJÆR, R., ... WECKHUYSSEN, S. (2016): "STXBP1 encephalopathy: A neurodevelopmental disorder including epilepsy", *Neurology*, 86(10), pp. 954–962.
- SZKLARCZYK, D., GABLE, A. L., LYON, D., JUNGE, A., WYDER, S., HUERTA-CEPAS, J., SIMONOVIC, M., DONCHEVA, N. T., MORRIS, J. H., BORK, P., JENSEN, L. J., y MERING, C. V. (2019): "STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets", *Nucleic acids research*, 47(D1), pp. D607–D613.

TASSÉ, M., SCHALOCK, R. & LUCKASSON, R. (2021): Schalock, R. L., Luckasson, R., y Tassé, M. J. (2021). *Intellectual disability: Definition, diagnosis, classification, and systems of supports* (12th Edition). American Association on Intellectual and Developmental Disabilities.

UDDIN, M., WOODBURY-SMITH, M., CHAN, A., BRUNGA, L., LAMOUREUX, S., & PELLECCIA, 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), pp. e199.

8. ANEXO I

- **Listado completo de los genes asociados a cada enfermedad**

Tabla 4.1. Listado de genes asociados a cada comorbilidad obtenido con la herramienta Venny 2.1.0 de los genes coincidentes entre los listados procedentes de DisGeNET y de la base de datos Gene del NCBI.

Epilepsia		Discapacidad intelectual		Trastornos del neurodesarrollo		Trastornos del espectro autista	
SCN8A	FGF12	SCN8A	PIK3CA	CDKL5		CHD8	
GRIN2B	FGF13	NAA15	POLA1	MECP2		NRXN2	
ABCB1	SETD1B	NDST1	PRMT7	STXBP1		CNTNAP2	
SLC12A5	CYFIP1	PHIP	PPP1CB	SCN2A		SHANK3	
PCDH19	FN1	MED13L	HDAC8	CHD2		NLGN3	
SLC6A1	ALPL	KDM5C	FMN2	FOXP1		NRXN1	
SCN1A	GABRA6	PRRT2	PSMD12	PTEN		DLG4	
SCN2A	GRIK1	TRMT1	SNAP25	FOXP1		GABRB3	
CHD2	NR3C1	PQBP1	TPO	TCF4		SCN1A	
PRRT2	GRM4	MECP2	TWIST1	GRIN2B		MEF2C	
GABRG2	GSTM1	BDNF	ZNF711	POGZ		SHANK2	
CNTNAP2	NRG1	SLC6A8	MBOAT7	MEF2C		OXTR	
GFAP	IGF1	SYNGAP1	FBXO31	SCN8A		AVPR1A	
GRIN2A	IL4	CHD8	KAT6A	DYRK1A		RELN	
HCN1	IL17A	DEAF1	OGT	TRIO		PTEN	
KCNQ2	KCNC1	PTCHD1	WDR73	KCNQ2		NLGN4X	
MECP2	KCNK3	MYT1L	CDK13	GABRB2		BDNF	
NPY	SAMD12	MTOR	HERC2	ASH1L		GRIN2B	
POLG	OTX1	GRIN2B	TRIP12	KMT2E		TSC2	
BDNF	KCNK9	PHF21A	TRMT10A	HNRNPU		FOXP1	
SLC1A2	ADAM22	RAB39B	ABCC9	MYT1L		CHD2	
CDKL5	FCMTE2	DDX3X	CDH15	GNAO1		CDH10	
STXBP1	GJD2	MEIS2	KPTN	PURA		JARID2	
TSC1	TRPV4	ZDHHC9	COX20	EBF3		MTNR1A	
TSC2	BRD2	POGZ	CSNK2A1	CNTNAP2		RYR2	
GABRB3	RORA	HIVEP2	B3GALNT2	NRXN1		DNMT3A	
SYNGAP1	RORB	PTEN	DPYD	UBE3A		GTF2I	

IQSEC2	RPL10	RAC1	VWA3B	FMR1	MTNR1B
GNAO1	SCN2B	HNRNPU	BRAT1	MBD5	RARB
MEF2C	SCN5A	TAF1	CNKSR2	PRKN	MYT1L
SMC1A	SLC6A3	ZC3H14	EMC1	BDNF	FMR1
FOXG1	SLC16A1	EIF2S3	EXOC6B	ARX	GABRA5
SCN9A	SLC22A1	GRIN1	DDHD2	FOXP2	MET
SLC12A2	SOD1	RLIM	WASHC4	EHMT1	SLC6A4
SLC1A1	SPTAN1	NSUN2	EBF3	CTCF	TBR1
UBE3A	STX1A	TTI2	CYFIP2	CNTN6	CADPS2
STX1B	SYT1	CAMK2A	GRIA4	KCNB1	TSC1
ALB	TAP1	MED23	CCDC22	RBFOX1	EIF4E
FLNA	TP53	HDAC4	HNRNPH2	GRIN2A	CTNNB1
GABRB2	TRPM2	RAI1	ITGB6	ACTL6B	SLC9A9
GRM1	TUBB2A	C12orf57	PAX3	CSNK2A1	ARID1B
KCNH1	UCHL1	DNMT3A	NSDHL	SATB2	SYN2
SLC35A2	TUBA1A	CHAMP1	KMT5B	AUTS2	POGZ
WDR45	CALB2	BCL11A	RSRC1	MET	EHMT1
DNM1	PHF6	KCNQ5	ATP6V1B2	RELN	MTOR
EEF1A2	JRK	RORA	TENM3	DISC1	GRM5
HNRNPU	ADAM23	SCN1A	MAP2K1	ZMIZ1	IL6
NEXMIF	SYNJ1	TAF2	KIDINS220	HNF1B	IL17A
FGFR3	CACNA1G	TRIO	ZNF148	HTT	MECP2
SLC1A3	STRADA	GPT2	CLPB	RPL10	MTHFR
CACNB4	ZFYVE9	METTL23	CRADD	GRM7	NF1
STAMBP	SCARB2	CIC	RSPRY1	HECW2	RBFOX1
DYRK1A	CLOCK	CUX2	PGAP3	SHANK2	AVP
GLUD1	MVP	KIF4A	RUSC2	DPP6	SCN2A
GPX1	ADA	SIN3A	KIF14	CSNK2B	SLC6A3
KCND2	AKT3	WDR62	AMMECR1	DEAF1	TNF
NPY2R	HCN4	LRP2	CHAT	SETD1A	UBE3A
PCDH12	ECT	SCAPER	IL1RAPL1	ZBTB20	CD38
PURA	DNM1L	ATP8A2	NACC1	DLG2	ADNP
ERN1	ARPC2	ELP2	NUS1	RAC3	CYFIP1
GAD2	ATP6AP2	PPP2R5D	CLTC	TOP3B	HTR2A
TANC2	DHRS9	ASH1L	CKAP2L	PHOX2B	ASMT
IL1B	TNK2	KMT2C	DDX11	NLGN4X	CNTN4
IL6	MARCHF6	SET	DMD	KIDINS220	MAOA
OPRM1	LAMC3	SLC1A4	DNM1	CD38	MBD5

SNAP25	RACK1	YWHAG	DYRK1A	GABBR2	VDR
TNF	ADARB1	WDR26	AHSG	LRRC4C	TPH2
TXNRD1	DEAF1	CAMK2B	FRAXE	CHD8	DRD3
L2HGDH	NPRL2	SERAC1	GABRG2	TAOK1	IL18
LGI1	TNFSF13B	FRMPD4	RAB3GAP2	TFE3	KIRREL3
SETD1A	CHL1	CERT1	SH2B1	VIP	SLC25A12
KCNA1	CPLX1	STAG1	GATM	FAM124B	FOXP2
GRIA1	AP3M2	FMR1	IARS1	IMMP2L	COMT
SYN2	CHI3L1	SUZ12	TUBB2B	SMARCC2	DYRK1A
MAPT	GABARAP	HMGB3	IMPA1	SMARCB1	GRM7
NR1I2	TNFRSF13C	KCNA2	KCNJ11	PHACTR1	PRKN
CDYL	NUS1	PGM3	MTR	KDM6B	PIK3CD
S100B	CLCN7	GTPBP2	CRBN	ELP4	TGFB1
ATP1A2	NIPA1	TBCD	PTRH2	ASTN2	CACNA1C
SLC2A1	SEZ6	ALDH5A1	FRMD4A	RAI1	TBL1XR1
CAPN1	CNN3	NRXN1	PSPH	CHD4	CHRNA7
SLC13A5	COL1A1	SHANK2	PTCH1	ADCYAP1	DRD2
ATP1A3	COL4A1	MEF2C	RAD51	ADCYAP1R1	DRD4
CAMSAP2	ACMSD	BRWD3	RARB	NLGN3	AKT1
CPA6	ADORA2A	WAC	BCKDHA	POU3F3	ESR2
WDR37	TRPM6	WASF1	RBBP8	WWOX	NRG1
SCN1A-AS1	CSNK2B	STAG2	XYLT1	FBLIM1	HOXA1
CHRNA4	CTNND2	PGAP2	SLC18A3	AHI1	IFNG
EFHC1	ADRA2B	MAP1B	TCF4	ANKS1B	PTGS2
ABCC2	CYP1A1	LARP7	TG	PPP2CA	DNMT1
CYP2C19	KCTD7	SNX14	KDM6A	PPP3CA	EGF
CYP2C9	DAPK1	TCF20	ZIC1	APOE	ESR1
DCX	LGI4	MAN1B1	FAR1	IL6	GAD1
ARX	PRICKLE2	DLG4	POMK	NRG1	AUTS2
MTOR	KCNV2	GRIA2	GORAB	DLL1	GFAP
GAD1	DNMT3A	PTRHD1	ADGRG1	KCNA2	GLO1
GRIA2	DPYSL2	PRR12	ARHGEF9	KIF5C	ANK3
HLA-B	DSCAM	NSD2	FTSJ1	NR4A2	GSTP1
HMGB1	EFNB3	ST3GAL5	GATAD2B		HLA-DRB1
APOE	EGFR	SUPT16H	MIR137		HP
KCNJ10	ENO2	DYNC112	ZC4H2		IGF1
KCNQ3	ERBB4	MAPK8IP3	AP4B1		AR
MTHFR	F2	AGO1	CNTN6		MAOB

P2RX7	BRAT1	ZBTB11	IL6	NGF
KMT2E	PHLDA1	DISC1	KIRREL3	OXT
PTGS2	NTNG1	AGMO	KDM5B	MAGEL2
TBC1D24	SMG6	NR4A2	CSNK2B	PCDH19
KCNT1	CUX2	TRAPPC4	KCNQ3	BCL2
PTPRD	SLC35A3	KDM3B	ZNF674	S100B
SCN3A	CALHM1	PPP2CA	MAGT1	SNAP25
CACNA1A	GABRR2	WDR45B	TBCK	ZNF804A
DEPDC5	DCAF13	ZNF462	C9orf72	CDH9
SV2A	GC	SOX9	JMJD1C	LOC110806262
GABRA1	ELP4	VAMP2	SETD1B	DPYSL3
GLUL	GHRH	TUBA1A	UBR4	ALDH1A3
KCNJ11	GLI3	ALG13	FRA12A	HLA-G
SCN1B	GLO1	TRPM3	NALCN	HOXB1
UGT2B7	GLP1R	LMAN2L	ANK3	APOE
ADK	NEAT1	TRRAP	GRM5	LEP
IL1A	KANSL1	KAT8	HMGB1	MIR137
SYN1	GSTT1	MFSD2A	ZNF81	MIF
TLR4	HCRT	ACTL6A	JARID2	PEX7
NRXN1	HDAC2	AP4M1	KCNC1	PON1
ABCG2	KCNIP3	ALKBH8	PAK1	KMT2C
SRPX2	PIK3R4	RAB11B	RBFOX1	RORA
IDH1	HIP1	IQSEC1	PIGG	RPL10
KCNMA1	HSPB1	PIGU	CMAS	CLEC7A
MIR134	HTR1A	ALG14	CYP26B1	SOD1
MIR146A	IL1RN	WDR37	ADGRG6	TCF20
NFE2L2	CXCR2	AP4E1	CLIP1	TERT
CSTB	AQP1	TANC2	EDC3	WNT1
EPHX1	INSR	INPP4A	MED25	WNT2
ARHGEF9	NHLRC1	SLC6A3	KATNAL1	MCPH1
GABBR1	KIF5A	HUWE1	LOC101928437	CMIP
WWOX	KIF5C	ARX	MAB21L2	CAMK4
RBFOX1	LAMB1	DLG3	ARPP21	CAT
TSPO	ELFN1	IQSEC2	NUDT21	CACNA1H
GPHN	LEPR	ADNP	BAZ1A	SLC27A4
CLCN2	ASIC2	FOXP1	ADD3	RAB39B
CNR1	PHOX2A	NEXMIF	CRP	CNTF
PRICKLE1	MIR15A	L1CAM	MACROD2	CX3CR1

CYP3A5	MIR212	PAK3	SPATA5	CYP2C19
GJA1	ME2	ATRX	DRD4	DAO
HIF1A	ASAH1	ARID1B	MAST1	ARX
KCNH2	KMT2A	PCDH19	SORCS3	HTR3C
LETM1	MMP2	ACTB	MYO16	AFP
MMP9	MMP3	SOX3	CLASP2	DRD1
PRNP	ATF3	TSC2	FBXO28	ERCC2
RELN	NFKB1	TRAPPC9	GSPT2	EZH2
REST	NNMT	CTNNB1	FRA2A	FABP3
SOD2	CCN3	SATB2	INTS1	FGF2
BRAF	NT5E	CNTNAP2	RBMX	FOXP1
PLPBP	SLC45A1	SETD5	UNC80	KANK1
CYP3A4	EJM2	SCN2A	SVBP	SATB2
NEDD4L	FCMTE1	TSC1	KCNJ2	SEZ6L2
GABRD	IER3IP1	TUSC3	KCNJ6	GDNF
GRIN1	TLR7	USP9X	KCNJ16	DAOA
GRM5	SUCO	CASK	KIF5C	IL37
KCNA2	PDYN	AUTS2	SLC6A17	DISC1
KCNB1	ATP6V1B2	STXBP1	ARHGAP4	GSTM1
KCNQ1	TSPEAR	UBE2A	LIMK2	GSTT1
MIR155	MED1	CUL4B	MAN2C1	HLA-A
ABCC1	SCN3B	TBR1	ASMT	APC
ALDH7A1	ANKH	SMS	FAM183A	HTR1A
GAL	PRODH	POMT1	SLC45A1	HTR1B
UGT1A4	PANX2	CTNND2	CEP83	HTR2C
PNPO	HECW2	ARID2	OTUD6B	HTR7
LGI2	QARS1	MBD5	SOBP	APP
MBD5	RARRES2	TBL1XR1	UBA6	IRS1
AZGP1	SGK1	PHF6	ELMOD1	JAK2
HCN2	SH3GL2	PHF8	KIF16B	KIR2DS1
ZEB2	MICAL1	ANKRD11	ZNF407	LRP2
CDK5	ST3GAL3	HCFC1	KCMF1	STS
RALBP1	SLC6A9	SMARCA4	STARD9	MARK1
CHRNA2	SLC6A11	SOX5	BCHE	NR3C2
CHRNA7	SLC18A2	BRPF1	TRPV4	MOG
CREB1	SOX11	THOC6	ELAC2	MTRR
RBFOX3	VAMP2	HERC1	SARS1	NEO1
DLG4	TACR1	VPS13B	BCORL1	NFKB1

AGER	CNTN2	SZT2	ATXN1	NOS2
EGR1	TRAPPC10	KAT6B	TSPYL2	NTM
CLN8	UBC	GRIN2A	SLC39A8	AHI1
PLCB1	UCP2	KMT2A	SLC6A4	ASH1L
PIGN	TRPV1	KIF1A	SLC6A11	RETN
PANX1	YWHAG	AVPR2	SNRPA	CELF4
GRIA3	CACNA1B	THOC2	SPTAN1	PTPRA
GRIK2	CACNA1C	NAA10	STX3	RIT2
GSK3B	CACNA1E	ZBTB18	TAF13	SCN8A
APP	KCNAB1	ADAT3	CACNA2D1	LIN7B
AQP4	HSPBAP1	CHRNA7	CAMK2G	PCDH15
MIR145	SLC25A22	DPH1	KDM2B	SLC6A2
NTRK2	TRPM3	EZH2	SLC9A7	TGM2
PLCG1	COL18A1	GRM1	PPP1R15B	TSPO
PPP3CA	NIPA2	NONO	EIF3A	TRIO
VARS2	CCM2	WWOX	LIN7A	CACNA1A
RASGRF1	SNX25	C12orf4	MCM3AP	CACNB2
CCL2	NTNG2	HECW2	KALRN	FA2H
SLC6A4	CAT	RPL10	BOD1	CNTNAP3
SLC6A8	NAPA	SLC6A1	CADPS2	FOXN1
STAT3	KRIT1	SMARCB1	MAGED1	SLC7A3
VDR	PHOX2B	SON	TELO2	FADS2
CACNA2D1	TOP3B	TRPS1		NOS1AP
EPM2A	WASL	EHMT1		
NPRL3	CHRFAM7A	FBXO11		
CASP3	KCNH7	ASXL3		
ADGRV1	SLC16A7	PPM1D		
SHANK3	TIMM50	EED		
CACNA1H	TRMT10A	ATP6AP2		
FAME3	KL	WARS2		
ABCC5	ADIPOQ	EEF1A2		
TOMM40	RAPGEF2	ZBTB20		
LIAS	KEAP1	HNMT		
CHRN2	DNAJC6	IGF1R		
CLU	SV2B	LAMA2		
COMT		MAOA		
ADORA1		NFIX		
COX8A		KCNK9		

CTSD	PDE4D
DBH	INPP5K

- **Listados de genes tras el análisis de sus interacciones junto a su valor para Degree y Betweenness Centrality**

Tabla 4.2. Degree y Betweenness Centrality de los genes asociados a la epilepsia y a la discapacidad intelectual cuyo degree es significativo (NS – No Significativo).

Gen	Epilepsia		Gen	Discapacidad intelectual	
	Degree	Betweenness Centrality		Degree	Betweenness Centrality
ALB	121	0,0615	CTNNB1	56	0,0674
BDNF	110	0,0360	EZH2	53	0,0386
TP53	109	0,0631	DLG4	52	0,0502
APP	97	0,0284	CHD8	51	0,0435
GRIN2B	94	0,0225	SMARCA4	49	0,0224
EGFR	91	0,0380	KDM6A	48	0,0220
CASP3	89	0,0246	GRIN2B	47	0,0174
IL6	88	0,0156	PTEN	47	0,0584
GFAP	86	0,0179	BDNF	45	0,0386
SNAP25	85	0,0204	KDM5C	44	0,0292
NTRK2	83	0,0147	GRIN2A	43	0,0133
CREB1	83	0,0259	NRXN1	43	0,0213
TNF	82	0,0173	GRIA2	41	0,0159
SCN2A	79	0,0119	SNAP25	40	0,0244
DLG4	79	0,0153	MECP2	40	0,0252
KCNQ2	77	0,0140	SCN2A	40	0,0275
GRIN2A	76	0,0078	ATRX	38	0,0223
GRM5	76	0,0086	SIN3A	37	0,0149
GRIA2	75	0,0087	ACTB	37	0,0347
KCNA1	75	0,0144	GRM5	36	NS
GRIN1	74	0,0103	KMT2C	36	NS
GRIA1	74	0,0122	HDAC4	36	0,0266
GABRG2	72	0,0078	FMR1	35	0,0211
SYN1	71	0,0083	DLG3	34	0,0245
GAD1	71	0,0108	GRIN1	33	NS
SCN1A	70	0,0132	CNTNAP2	32	0,0166

IGF1	70	0,0133	PPP2CA	32	0,0264
GABRA1	69	0,0110	CAMK2A	31	NS
GAD2	68	0,0075	HUWE1	31	0,0252
STAT3	65	0,0081	RAC1	31	0,0297
MTOR	64	0,0199	MTOR	31	0,0302
SLC6A1	62	NS	SMARCB1	30	NS
NRXN1	62	0,0112	STXBP1	30	0,0133
RBFOX3	61	0,0049	KMT2A	29	NS
KCNC1	61	0,0073	DNMT3A	29	NS
SYT1	61	0,0093	SETD1B	29	NS
FN1	61	0,0148	SYNGAP1	27	NS
CACNA1A	59	0,0046	SCN1A	26	NS
IL1B	59	0,0058	GABRG2	26	NS
PTGS2	58	0,0083	PIK3CA	26	NS
SLC1A2	58	0,0101	KCNC1	26	NS
MMP9	57	0,0071	SUZ12	25	NS
STXBP1	57	0,0079	ASH1L	25	NS
GRM1	56	0,0054	ARID1B	25	NS
MAPT	56	0,0171	CUL4B	25	0,0260
CHRNA4	55	NS	GRM1	24	NS
APOE	55	0,0079	SHANK2	24	NS
TLR4	54	0,0044	KDM2B	24	NS
CCL2	53	NS	PHF6	24	NS
SCN8A	53	0,0070	CAMK2B	24	NS
CAT	53	0,0088	RBFOX1	24	0,0124
CDK5	53	0,0214	PPP1CB	24	0,0124
CNR1	52	NS	HCFC1	24	0,0145
GABRD	51	NS	THOC2	24	0,0196
KCNA2	51	0,0050	EHMT1	23	NS
KCND2	51	0,0056	TRIP12	23	0,0123
CACNA1B	50	NS	TRRAP	23	0,0144
GABBR1	50	NS	SCN8A	23	0,0144
NPY	50	0,0046	POGZ	23	0,0190
SPTAN1	50	0,0131	IL1RAPL1	23	0,0222
GABRB2	49	NS	CLTC	23	0,0234
CACNA1C	48	0,0067	KDM5B	22	NS
CALB2	48	0,0070	CASK	22	0,0164
MECP2	48	0,0139	TAF1	21	NS

ENSG00000196689	48	0,0208	SLC6A1	20	NS
UBC	47	0,0166	PHF8	20	NS
OPRM1	46	0,0074	ARID2	20	NS
SOD1	46	0,0108	STAG2	20	NS
IL4	45	NS	CSNK2A1	20	NS
KCNQ3	45	NS	UBE2A	20	NS
AQP4	45	NS	RLIM	20	NS
SOD2	45	0,0049	WHSC1	20	0,0139
HTR1A	45	0,0074	IL6	20	0,0226
NR3C1	45	0,0095	GRIA4	19	NS
SCN1B	44	NS	HDAC8	19	NS
KCNT1	44	NS	ACTL6A	19	NS
EGR1	44	NS	SPTAN1	19	NS
DNM1	44	0,0076	MAP2K1	19	NS
SLC12A5	43	NS	PCDH19	19	NS
CNTN2	43	0,0048	DNM1	19	NS
GABRB3	43	0,0056	DMD	19	0,0155
GSK3B	43	0,0094	EED	18	NS
GJA1	42	0,0130	TSC2	18	NS
RELN	41	0,0102	SLC6A3	18	NS
SYN2	40	NS	ANK3	18	NS
GABRA6	40	NS	DISC1	18	NS
KCNJ10	40	0,0047	VAMP2	18	NS
SLC6A4	40	0,0052	TBR1	18	NS
IL17A	39	NS	USP9X	18	NS
ADIPOQ	39	NS	DYNC1I2	18	NS
S100B	39	NS	FBXO11	18	NS
CDKL5	39	0,0048	TUBA1A	18	0,0160
COMT	39	0,0116	UBR4	18	0,0172
MMP2	38	NS	KAT6A	17	NS
SLC1A3	38	NS	KCNQ3	17	NS
PDYN	38	NS	KCNA2	17	NS
LGI1	38	0,0062	MBD5	17	NS
HIF1A	37	NS	POLA1	17	NS
GNAO1	36	NS	SLC18A3	17	NS
RBFOX1	36	NS	RBMX	17	NS
FGF13	36	NS	YWHAG	17	NS

CNTNAP2	36	NS	MEF2C	17	NS
NFKB1	35	NS	PAX3	17	NS
STX1A	35	NS	KIF1A	17	NS
KCNMA1	35	NS	KIF5C	16	NS
VAMP2	35	NS	OGT	16	NS
ADORA1	35	NS	CSNK2B	16	NS
SLC6A3	34	NS	DYRK1A	16	NS
GRIA3	33	NS	DDX3X	16	NS
GRM4	33	NS	BRWD3	16	NS
GRIK2	33	NS	DRD4	16	NS
F2	33	NS	EIF2S3	16	NS
KCNH2	33	0,0044	SOX9	16	0,0133
TSC2	33	0,0066	JARID2	15	NS
GNB2L1	33	0,0107	KAT8	15	NS
CXCR2	32	NS	MAP1B	15	NS
KIF5A	32	NS	PPP2R5D	15	NS
GLUL	32	NS	ARX	15	NS
ABCB1	32	0,0092	NONO	15	NS
NFE2L2	31	NS	IGF1R	15	NS
MMP3	30	NS	ALG13	15	0,0222
PCDH19	30	NS	SUV420H1	14	NS
ENO2	30	NS	PHF21A	14	NS
SLC2A1	30	0,0049	HERC2	14	NS
IDH1	30	0,0067	CLIP1	14	NS
CTSD	30	0,0100	TWIST1	14	NS
GPHN	29	NS	PQBP1	14	NS
SCN5A	29	NS	SUPT16H	13	NS
SV2A	29	NS	CAMK2G	13	NS
KCNB1	29	NS	MED13L	13	NS
ATF3	29	NS	AUTS2	13	NS
SCN9A	29	NS	HERC1	13	NS
DCX	28	NS	AGO1	13	NS
CLU	28	NS	PAK1	13	NS
SH3GL2	28	NS	SLC9A7	13	NS
CYP3A4	28	0,0044	IQSEC2	13	NS
ABCG2	28	0,0090	FOXP1	13	NS
TLR7	27	NS	CACNA2D1	13	NS
HMGB1	27	NS	RAD51	13	NS

CACNB4	27	NS	FTSJ1	13	0,0186
CHRNA2	27	NS			
HCRT	27	NS			
CACNA1H	27	NS			
TACR1	27	0,0053			
UBE3A	27	0,0077			
FOXP1	27	0,0117			

Tabla 4.3. Degree y Betweenness Centrality de los genes asociados a los trastornos del neurodesarrollo y a los trastornos del espectro autista cuyo degree es significativo (NS – No Significativo).

Trastornos del neurodesarrollo			Trastornos del espectro autista		
Gen	Degree	Betweenness Centrality	Gen	Degree	Betweenness Centrality
NRXN1	30	0,0777	BDNF	74	0,0704
GRIN2B	29	0,0804	AKT1	73	0,0687
CNTNAP2	28	0,0688	IL6	63	0,0546
MECP2	28	0,0955	APP	62	0,0677
GRIN2A	27	0,0468	GRIN2B	52	0,0319
CHD8	27	0,1520	PTEN	52	0,0339
NLGN4X	23	0,0255	TNF	48	0,0214
SCN2A	23	0,0816	DLG4	45	0,0326
CDKL5	22	0,0368	CTNNA1	45	0,0375
NLGN3	21	NS	PTGS2	44	0,0156
FMR1	21	0,0493	GRM5	44	0,0170
BDNF	21	0,0742	NRXN1	44	0,0310
RELN	18	0,0401	IGF1	43	0,0097
PTEN	18	0,0544	ESR1	43	0,0191
RBFOX1	17	0,0288	EGF	41	NS
SHANK2	16	NS	DRD2	41	0,0135
DLG2	16	NS	MECP2	41	0,0328
KCNQ2	15	NS	COMT	40	0,0241
DISC1	15	0,0283	GFAP	39	0,0256
STXBP1	14	NS	NGF	38	0,0096
AUTS2	14	NS	APOE	38	0,0103
UBE3A	14	0,0216	LEP	38	0,0104
FOXP2	12	0,0231	MTOR	36	NS

SCN8A	11	NS	SLC6A4	35	0,0100
ASTN2	11	NS	FGF2	35	0,0104
FOXP1	11	NS	CAT	35	0,0437
SMARCB1	11	NS	HTR2A	34	0,0139
			CNTNAP2	34	0,0206
			FMR1	33	0,0100
			NLGN3	33	0,0118
			GAD1	33	0,0163
			RELN	33	0,0178
			SNAP25	33	0,0178
			IFNG	32	NS
			DISC1	32	0,0098
			SLC6A3	31	NS
			OXT	31	0,0210
			DRD4	30	NS
			JAK2	30	NS
			AR	30	0,0111
			IL17A	29	NS
			NLGN4X	29	NS
			EZH2	28	0,0229
			UBE3A	27	0,0129
			CHD8	27	0,0151
			SOD1	27	0,0364
			NRG1	26	NS
			MAOB	26	NS
			MET	26	0,0093
			OXTR	26	0,0112
			DRD3	25	NS
			TSC2	25	NS
			DNMT1	25	0,0129
			TGFB1	24	NS
			HTR1A	24	NS
			IRS1	24	NS
			SHANK2	24	NS
			HTR2C	24	NS
			GABRB3	24	NS
			HTR1B	24	NS
			SCN2A	24	0,0095

CACNA1C	24	0,0109
MAOA	23	NS
NF1	23	0,0153
DRD1	22	NS
NFKB1	21	NS
CHRNA7	21	NS
FOXG1	21	NS
GDNF	21	0,0091