

Una breve introducción a la genética para la interpretación de mutaciones en STXBP1 *

Isabel Trigo-Pérez, Francisco J. Esteban.

Unidad de Biomedicina de Sistemas. Área de Biología Celular. Universidad de Jaén.

14 de abril de 2020

I. Introducción

El síndrome STXBP1 está considerado como una alteración genética que tiene importantes implicaciones en el neurodesarrollo. Los pacientes que presentan mutaciones en el gen STXBP1 tienen tres anomalías fenotípicas principales: discapacidad intelectual (DI), epilepsia y trastornos del movimiento. Sin embargo, se han dado casos en los que el paciente no presenta epilepsia, por lo que se está empezando a considerar que el síndrome STXBP1 no es una encefalopatía epiléptica como tal sino, más bien, un trastorno del neurodesarrollo.

La principal causa de la encefalopatía STXBP1 es una mutación heterocigótica de novo, es decir, ausentes en generaciones anteriores. Este tipo mutaciones se encuentran entre las causas más frecuentes de encefalopatías epilépticas genéticas. Además, las mutaciones en el gen STXBP1 conducen a una disminución de la estabilidad de la proteína que codifica y, en consecuencia, a la reducción de sus niveles en la célula. Desde un punto de vista funcional, la proteína STXBP1 es esencial para el tráfico de membrana intracelular, los mecanismos de secreción celular y, muy especialmente, para una correcta transmisión del impulso nervioso. Concretamente, su actividad es necesaria para los procesos de transporte, anclaje y fusión de las vesículas sinápticas.

Aun siendo un síndrome descrito hace poco más de una década, son muchas las investigaciones y publicaciones científicas que hablan de la encefalopatía STXBP1. Los métodos, los resultados y las conclusiones que tratan de explicar los procesos importantes que tienen lugar en esta enfermedad están normalmente explicados en un lenguaje científico que, a menudo, resulta tedioso de entender si no se cuenta con conocimientos científicos previos. Además, los diagnósticos y estudios genéticos también contienen información importante que puede resultar de interés.

Así pues, el objetivo de este trabajo es proporcionar a las familias conceptos que puedan favorecer la comprensión de la terminología básica que, desde un punto de vista genético, subyace al síndrome STXBP1. Es por ello que solo se pretende proporcionar algunas pinceladas sobre aspectos básicos relacionados, como en qué consiste el

*E-mails: ITP itp00005@red.ujaen.es, FJE: festeban@ujaen.es

ADN, o qué es un gen, una mutación y cómo puede afectar a la proteína que codifica. Como somos conscientes de que es posible que hayan tenido en sus manos un diagnóstico genético con las mutaciones que se han detectado, también hemos considerado importante explicar qué significa y cómo se interpreta la nomenclatura de las mutaciones, así como incluir en qué consisten los test genéticos más utilizados.

2. El código genético

Los seres vivos estamos formados por células y cada una de ellas contiene, con ciertas particularidades, la misma información genética en forma de ADN. Dentro de la molécula de ADN se encuentran los genes que son los portadores de información para, entre otras funciones, la síntesis de proteínas, entre las que se encuentra STXBP1.

El ADN está empaquetado en estructuras denominadas cromosomas. Salvo alteraciones poco frecuentes, cada persona porta 46 cromosomas en 23 pares: 22 pares de autosomas y un par de cromosomas sexuales (XX mujer; XY hombre). Desde el punto de vista hereditario, recibimos un cromosoma de cada par por progenitor (22 +X de la madre y 22+Y del padre). Los cromosomas autosómicos se denominan con un número, del 1 al 22, el cual está relacionado con su tamaño (Figura 1).

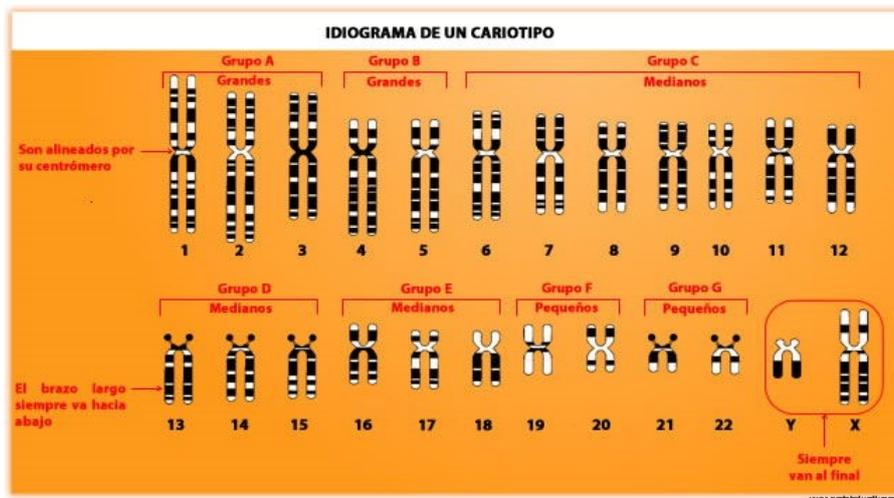


Figura 1: Cariotipo humano

(<https://www.portaleducativo.net/segundo-medio/15/cariotipo-humano>).

Para entender cómo nuestras células procesan la información genética para formar proteínas, podemos basarnos en el clásico “Dogma central de la Biología Molecular” (Figura 2). Los principales procesos que tienen lugar con este fin son: la replicación del ADN, que actúa de molde para su propia síntesis; la transcripción del ADN, a ARN mensajero, un intermediario específico que se forma a partir de cada segmento de ADN (gen) que codifica para una proteína concreta; y la traducción del ARN mensajero a proteína.

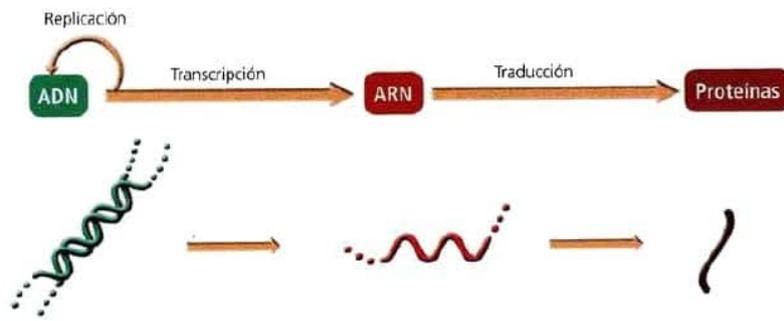


Figura 2: Dogma central de la Biología Molecular
 (<https://www.blogdebiologia.com/dogma-central-de-la-biologia-molecular.html>).

2.1. ADN

Simplificando mucho, podemos decir que la información contenida en el ADN está codificada, principalmente, en cuatro moléculas llamadas nucleótidos: adenina (A), guanina (G), timina (T), y citosina (C). Por su estructura molecular, A y G son de tipo purina, y T y C son de tipo pirimidina (Figura 3).

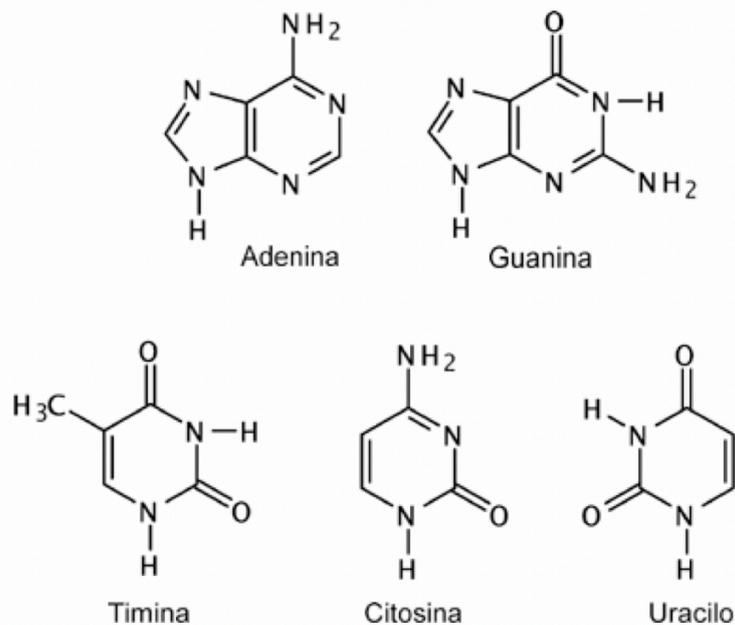


Figura 3: Nucleótidos.

En el ARN se encuentran los mismos nucleótidos salvo que la timina es sustituida por el uracilo, otra pirimidina (Figura 3). Otro aspecto a destacar de la estructura del ADN es que existe un sentido de lectura concreto de su cadena para replicarse, durante la división celular, y para transcribirse a ARN. También para el ARN cuando se traduce a proteína. A un extremo de la cadena se le denomina 5', y al otro 3'. Sin entrar en detalles, indicar que la dirección de lectura es 5' → 3' (Figura 4).

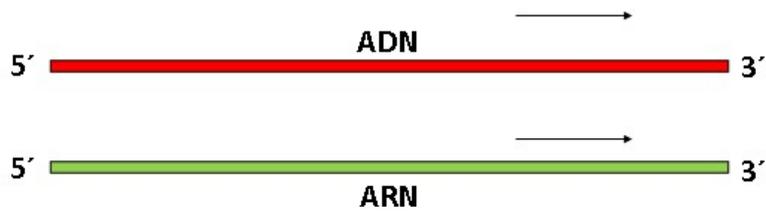


Figura 4: Esquema de la dirección de lectura del ADN y ARN.

2.2. Genes

Para definir *gen*, podemos hacerlo desde el punto de vista hereditario, según el cual, un gen se corresponde con un carácter que se hereda, o desde el punto de vista molecular, definido como un segmento de ADN que contiene información, por ejemplo, para formar proteínas. Estructuralmente, en cada gen podemos encontrar secuencias que se usarán para codificar a la proteína, denominadas exones, y otras que no, llamadas intrones (Figura 5). Además, un gen contiene secuencias reguladoras y regiones promotoras que ayudan a la correcta transmisión de la información genética.

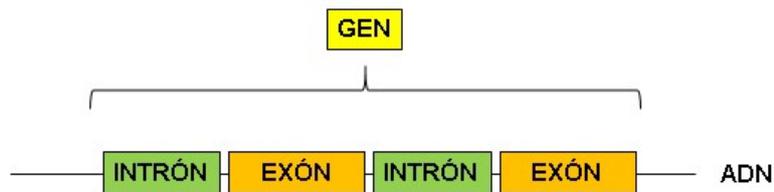


Figura 5: Esquema de intrones y exones en un gen.

Tal y como se ha introducido anteriormente, para que un gen determinado de lugar a una proteína, el ADN debe ser transcrito a ARN mensajero (ARNm) en un proceso llamado transcripción. En dicho proceso, a partir de una cadena molde de ADN se obtiene una cadena de ARNm gracias a la acción de una enzima llamada ARN polimerasa. Al ARN recién sintetizado se le denomina transcrito primario y debe experimentar una serie de transformaciones para dar lugar al ARN maduro y funcional (transcrito maduro).

Como se ha explicado anteriormente, dentro de un gen existen tanto exones como intrones y ambos se encuentran transcritos en el primer ARN que se sintetiza (transcrito primario). Sin embargo, solo los exones son segmentos codificantes de polipéptidos (un modo de denominar a las cadenas de proteínas), mientras que los intrones son fragmentos que interrumpen esa región codificante. En un proceso denominado corte y empalme (*splicing*), los intrones son eliminados del transcrito primario y los exones son unidos para formar una secuencia continua que especifica un polipéptido (proteína) funcional (Figura 6).

Por otro lado, se debe mencionar que no todo el ADN da lugar a proteína. Por ejemplo, el ADN también se puede transcribir en muy diferentes tipos de ARN con

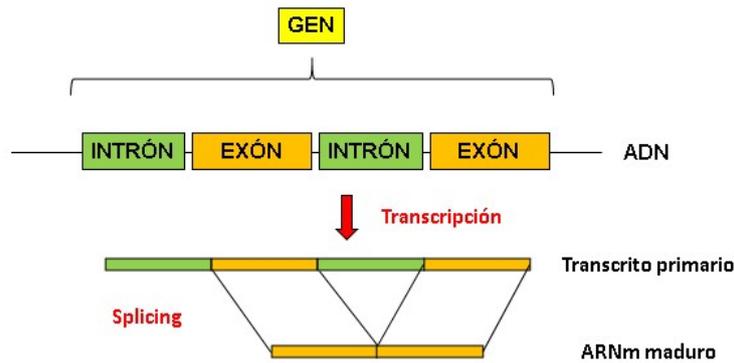


Figura 6: Esquema de un gen junto a su transcripción y *splicing*.

diversas funciones, tales como ARNt, ARNsn, ARNi o microARN, entre otros.

2.3. Código genético

El código genético se puede describir como la clave que nos permite traducir una secuencia concreta de nucleótidos en el ARN (directamente copiada del ADN) a una secuencia de aminoácidos en una proteína, ya que las unidades básicas de las proteínas son los aminoácidos. Dentro del código genético se presenta el término codón. Un codón es una secuencia de 3 nucleótidos de ARN (copiados del ADN) que se corresponde con un aminoácido específico. Existen 20 aminoácidos que forman parte de las proteínas. Cada uno de ellos puede estar representado por su abreviatura o por una sola letra (Figura 7), además del codón que lo codifica.

El código genético es parcialmente degenerado (un sistema de codificación es degenerado cuando diversas señales tienen el mismo significado), ya que la mayoría de los aminoácidos están codificados por más de un codón (solo la metionina y el triptófano están codificados por uno solo). Los codones que codifican para un mismo aminoácido se denominan sinónimos. Además, el código genético es prácticamente universal, esto quiere decir que los mismos codones se utilizan casi siempre para los mismos aminoácidos, en todo tipo de células, desde bacterias a humanos. Por último, hay que destacar que la señal de comienzo de una cadena peptídica es única (AUG) y que existen tres tripletes (UAA,

Aminoácido	Código (3 letras)	Código (1 letra)
Alanina	Ala	A
Arginina	Arg	R
Asparagina	Asn	N
Aspartato	Asp	D
Cisteína	Cys	C
Glutamina	Gln	Q
Ácido glutámico	Glu	E
Glicina	Gly	G
Histidina	His	H
Isoleucina	Ile	I
Leucina	Leu	L
Lisina	Lys	K
Metionina	Met	M
Fenilalanina	Phe	F
Prolina	Pro	P
Serina	Ser	S
Treonina	Thr	T
Triptófano	Trp	W
Tirosina	Tyr	Y
Valina	Val	V

Figura 7: Aminoácidos y sus abreviaturas.

UAG y UGA) que son señales de terminación o STOP (Figura 8).

		Segunda Letra								
		U		C		A		G		
Primera Letra	U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys	U
		UUC	Phe	UCC	Ser	UAC	Tyr	UGC	Cys	C
		UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	STOP	UGA	STOP	A
		UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	STOP	UGG	Try	G
C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	U	
	CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg	C	
	CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg	A	
	CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg	G	
A	AUU	Iso	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser	U	
	AUC	Iso	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser	C	
	AUA	Iso	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg	A	
	AUG	Met	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	Arg	G	
G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly	U	
	GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gly	C	
	GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly	A	
	GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly	G	

©BIOINNOVA
innovabiologia.com

Figura 8: Código genético

(<http://www.innovabiologia.com/biodiversidad/diversidad-animal/el-codigo-genetico/>).

Como se ha comentado anteriormente, las moléculas que forman las proteínas son los aminoácidos, concretamente los 20 aminoácidos esenciales (Figura 7). Pero ¿cómo se sintetizan las proteínas? Según el Dogma central de la Biología, las proteínas son sintetizadas a partir de la información contenida en el ARN (concretamente el ARN mensajero) mediante un proceso llamado *traducción*.

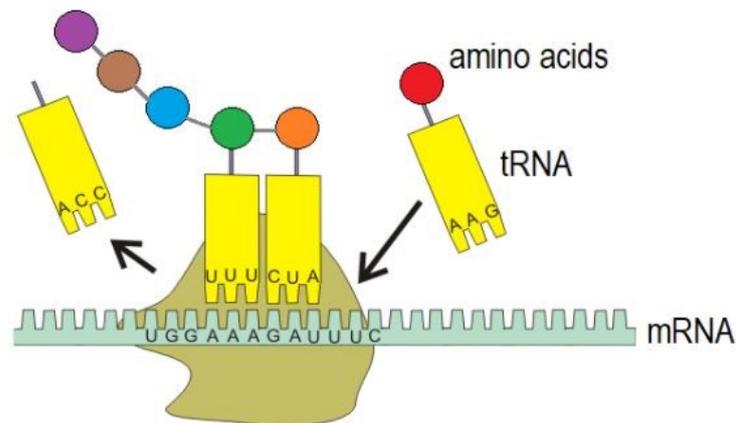


Figura 9: Esquema del proceso de traducción. Aminoácidos en rojo, ARNt en amarillo, ARNm en azul y ribosoma en marrón

(<https://blog.myheritage.fi/2018/02/dnan-perusteet-osa-3-dnan-ilmentyma/>).

En la Figura 9 podemos observar que los protagonistas de este proceso son el ARNm, el ARNt (transferente), los distintos aminoácidos y el ribosoma. El ARNt tiene como función tanto llevar un único aminoácido, en uno de sus extremos, como unirse al ARNm de forma momentánea por complementariedad de bases. Dicha complementariedad se refiere a que a una A se va a unir una U y a una C se va a unir una G. Todo este proceso se lleva a cabo dentro de un complejo macromolecular denominado *ribosoma*. La unión entre ARNt y ARNm se va sucediendo de forma consecutiva mientras van llegando nuevos ARNt con distintos aminoácidos unidos. Estos aminoácidos, a su vez, se van uniendo entre sí formando lo que se llama la *estructura primaria de la proteína*, que será explicada en el siguiente apartado.

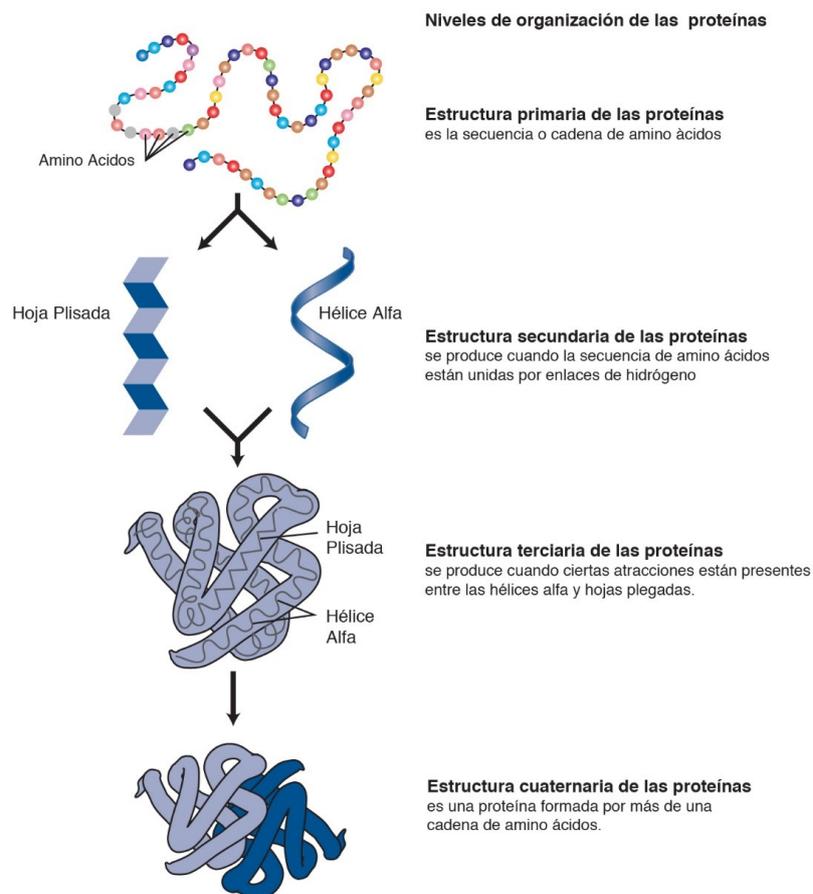


Figura 10: Esquema de los diferentes niveles de compactación de una proteína (<https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Proteina>).

2.4. Estructura de las proteínas

Para poder entender cómo afectan las mutaciones a las proteínas, primero hay que saber cómo es la estructura de las proteínas y qué niveles existen dentro de esta estructura. Cabe destacar que la conformación de la proteína es clave para su correcto

funcionamiento. Existe una serie de niveles dentro de la conformación de la proteína (Figura 10), de menor a mayor compactación:

- Estructura primaria: se trata de la secuencia de aminoácidos de forma lineal. Esta secuencia va a determinar los distintos niveles de organización estructural posteriores.
- Estructura secundaria: consiste en la disposición espacial de la secuencia lineal de aminoácidos. Esta estructura da lugar a formas de organización diferentes. Las más comunes son:
 - Hélice alfa: la secuencia de aminoácidos están dispuestos en una estructura helicoidal dextrógira.
 - Lámina beta: se trata del posicionamiento paralelo de dos cadenas de aminoácidos dentro de la misma proteína.
- Estructura terciaria: es el modo en que la cadena de aminoácidos se dispone de forma tridimensional en el espacio.
- Estructura cuaternaria: consiste en la unión de varias estructuras terciarias.

3. Tipos de variantes genéticas

Podemos definir mutaciones como variaciones en la secuencia del ADN que, a su vez, pueden dar lugar a alteraciones en la producción o composición de las proteínas. Las variantes genéticas las podemos clasificar según las células afectadas, la extensión del material genético alterado, y según su origen y su efecto.

3.1. Mutaciones según las células afectadas

Cuando una mutación se produce en el ADN de las células sexuales (digamos espermatozoide y óvulo), ésta es heredable. Desde el punto de vista evolutivo, la selección natural actúa sobre ellas así como también sobre las mutaciones que puedan ocurrir en las células madre de los primeros estadios del embrión. Por otro lado, si la mutación se produce en las células somáticas y sus hijas, ésta no es heredable y no tiene relevancia a nivel evolutivo.

3.2. Mutaciones según la extensión del material genético afectado

Las mutaciones según la extensión del genoma afectado podemos subdividirlas en tres niveles: las mutaciones génicas, las mutaciones cromosómicas y las mutaciones genómicas.

3.2.1. Mutaciones génicas

Este tipo de mutaciones producen cambios en la secuencia de nucleótidos de un gen. Los tipos son:

- **Sustitución de bases:** La mutación se produce cuando un nucleótido de la secuencia del ADN es sustituido por otro en la secuencia. Según, el cambio:
 - **Transición:** se produce cuando una pirimidina es sustituida por otra pirimidina, o cuando una purina es sustituida por otra purina.
 - **Transversión:** se produce cuando una pirimidina es sustituida por una purina, y viceversa.

Este tipo de alteraciones pueden tener varias consecuencias, lo que da lugar a los siguientes tipos de mutaciones:

- **Mutaciones sin sentido o “non-sense”:** al sustituirse una base por otra provoca que un codón que especifica un aminoácido se convierta en un codón de STOP, dando lugar a la interrupción prematura de la cadena. Esta alteración tiene como consecuencia la síntesis de proteínas truncadas. En STXBP1, el 13 % de los pacientes presenta mutación “non-sense”.
 - **Mutaciones de diferente sentido o “missense”:** el cambio de base da lugar a una alteración drástica de la estructura y/o de la función de la proteína cuando da lugar a un aminoácido muy distinto al original o se produce en una zona crítica de la cadena. En STXBP1, el 47 % de los pacientes presenta mutación “missense”.
 - **Mutaciones en el sitio de empalme:** abarca las secuencias que delimitan los exones-intrones donde tienen lugar los cortes y empalmes durante la maduración del RNA (“splicing”). Pueden alterar dicho proceso y causar la formación de ARN aberrantes. En STXBP1, el 15 % de los pacientes presenta mutación en el sitio de empalme.
 - **Mutaciones del mismo sentido o “sense”:** el cambio de base no provoca un cambio en el aminoácido que especifica el codón. Esto es debido al carácter degenerado del código genético, donde varios codones pueden dar lugar al mismo aminoácido.
 - **Mutaciones silenciosas o “silent”:** el cambio de base da lugar a un aminoácido semejante al original o tiene lugar en una zona de la cadena que no afecta ni a la estructura ni a la funcionalidad de la proteína.
- **Deleción de bases:** una base es eliminada de la secuencia de ADN.
 - **Inserción de bases:** aparece una nueva base en la secuencia de ADN.

La deleción y la inserción de bases tienen consecuencias más drásticas a la hora de sintetizar la proteína ya que alteran la secuencia de los codones y, como consecuencia, provocan la alteración de toda la secuencia a partir del punto donde se producen. A este tipo de mutaciones se las denomina mutaciones de desplazamiento del marco de lectura o “frame-shift”. En STXBP1, el 17 % de los pacientes presenta “frame-shift”.

3.2.2. Mutaciones cromosómicas

Afectan a la posición que tienen los genes en el genoma. Se produce un cambio en la estructura cromosómica. Entre ellas distinguimos cuatro tipos:

- Deleción cromosómica: una secuencia del genoma, ya sea solo un gen o varios, desaparece dando lugar a un cromosoma más corto.
- Duplicación cromosómica: una secuencia del genoma, ya sea solo un gen o varios, aparece duplicada dando lugar a un cromosoma más largo.
- Inversión cromosómica: una secuencia del genoma, ya sea solo un gen o varios, cambia su orientación y da lugar a un cromosoma con dicha secuencia invertida.
- Translocación cromosómica: una secuencia del genoma, ya sea solo un gen o varios, pasa a formar parte de otro cromosoma.

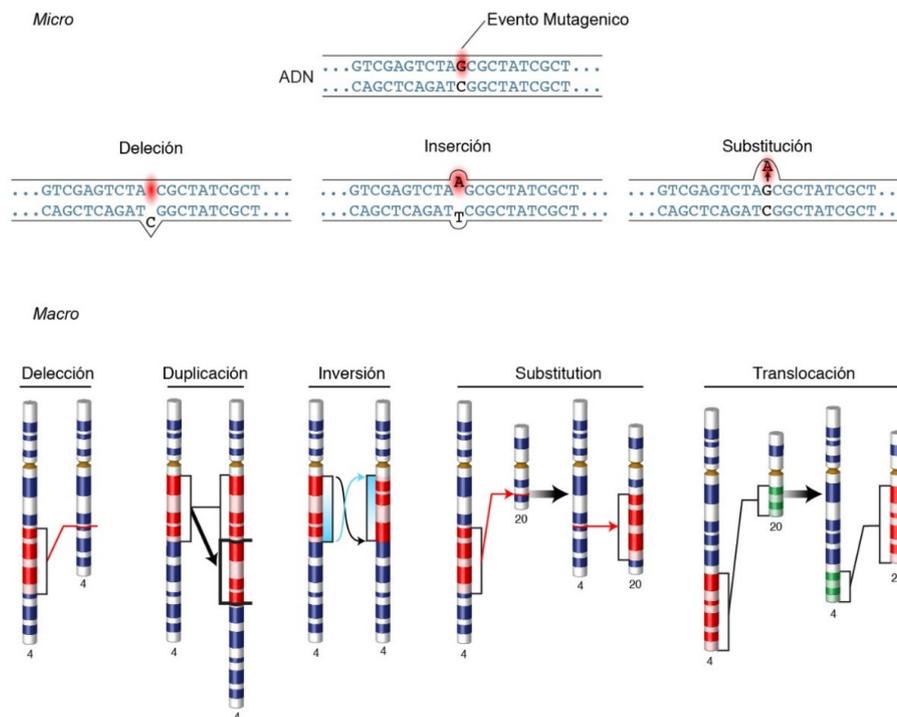


Figura 11: Mutaciones génicas y cromosómicas (<https://www.genome.gov/>).

3.2.3. Mutaciones genómicas

Este tipo de mutaciones da lugar a una alteración en el número de cromosomas típico de la especie. Los tipos son:

- Euploidía: cuando una célula tiene organizados sus cromosomas en juegos completos. Por ejemplo, las células humanas contienen 46 cromosomas y al tener dos juegos completos de cromosomas, a este número se le asigna un $2n$. Puede haber más múltiplos de n que derivan en, por ejemplo, trisomías ($3n$) o tetraploidías ($4n$).
- Aneuploidía: la aneuploidía es monosomía si solo presenta una copia de un cromosoma cuando debería haber dos ($2n - 1$), por ejemplo, el síndrome de Turner; es trisomía si presenta una tercera copia de un cromosoma cuando solo debería haber dos de ese cromosoma ($2n + 1$), como ocurre en el síndrome de Down.

4. Nomenclatura de las mutaciones

A la hora de presentar un diagnóstico genético, y nombrar el tipo de mutación que se descubre, se utiliza una nomenclatura estándar siguiendo las directrices establecidas por la Human Genome Variation Society (HGVS), que es el organismo internacional que define la nomenclatura de las variantes genéticas a nivel de ADN, ARN y proteínas. En la página web de HGVS (<http://varnomen.hgvs.org/>) pueden encontrar una guía detallada de dichas directrices.

4.1. Secuencias de referencia

Una secuencia de referencia es aquella que se utiliza para ser comparada con las secuencias que se están estudiando, y así poder ver si existen variantes que distingan la secuencia analizada de la secuencia de referencia.

Para saber qué tipo de secuencia de referencia se está utilizando se ha de indicar con un prefijo específico que siempre va delante de la descripción de la variante.

En la Figura 12 se muestran los tipos de prefijos.

Sufijo	Tipo de secuencia
g.	secuencia genómica
m.	secuencia mitocondrial
c.	secuencia de ADN codificante para proteína
n.	secuencia de ADN no codificante
r.	secuencia de ARN
p.	secuencia de la proteína

Figura 12: Sufijos para las secuencias de referencia.

4.2. Cambios de secuencia a nivel del ADN y ARN

- Sustitución de bases: puede ser la sustitución de un único nucleótido por otro (Figura 13), o que involucre a dos o más nucleótidos consecutivos, en cuyo caso se denominan deleciones/inserciones o “indels” (deleción de varios nucleótidos que son reemplazados por otros, en igual o diferente número).
- Deleción de bases: se delecciona un intervalo. La Figura 15 muestra un ejemplo, con las posiciones del primer y el último nucleótido deleccionados separados por un guión bajo “_” cuando la deleción involucra dos o más nucleótidos. Si la deleción implica solo un nucleótido simplemente se indica el número de su posición.

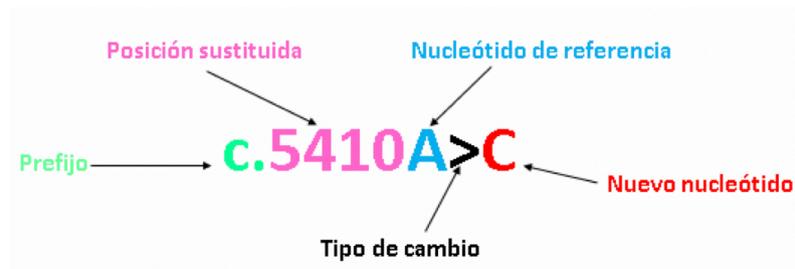


Figura 13: Sustitución de un nucleótido por otro.

En la Figura 14 se describe una delección de 5 nucleótidos desde la posición 2123 a la 2127 que es reemplazada por los nucleótidos AG en una secuencia de ADNc.



Figura 14: Sustitución tipo *indel*.



Figura 15: Mutación tipo delección.

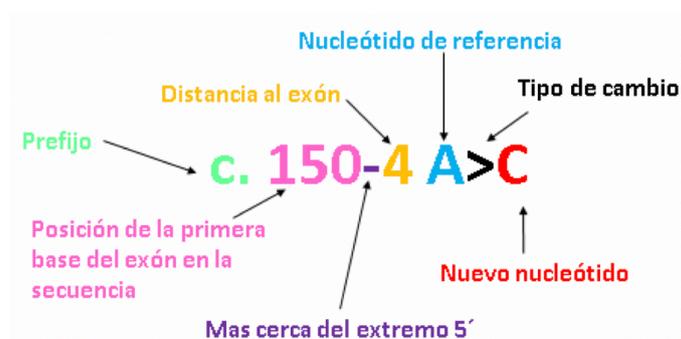


Figura 16: Mutación tipo corte y empalme.

- Mutaciones de corte y empalme: este tipo de mutaciones están relacionadas con las variantes que se dan en posiciones intrónicas y son siempre nombradas en relación al exón flanqueante más cercano. Para ello se utilizan los signos “-“ si el cambio está localizado más cerca del extremo 5´ o “+” si el cambio está localizado más cerca del extremo 3´. En el ejemplo de la Figura 16 se puede observar a un cambio de A>C localizado a 4 nucleótidos de la región 5´ del exón, siendo su primera base la localizada en la posición 150 en la secuencia.

4.3. Cambios de secuencia al nivel de proteína

La descripción de las variantes al nivel de la proteína es básicamente similar a la descripción a nivel de ADN, con algunas pequeñas modificaciones. En este caso la posición no se refiere a un solo nucleótido sino a un codón.

- Mutaciones ”missense”: en el ejemplo de la Figura 17 se puede ver cómo triptófano, en la posición 32, cambia a una leucina.
- Mutaciones del mismo sentido: este tipo de mutaciones, al no existir un cambio de aminoácido aunque haya cambiado una base, se representan con el “nuevo” aminoácido, su posición y un “=” (Figura 18).
- Mutaciones ”nonsense”: en el ejemplo de la Figura 19, la mutación ”nonsense”se indica con el aminoácido leucina en el codón número 32 fue cambiado por un codón de terminación (STOP) que se representa con un ”*”.
- Deleción de aminoácidos: en el ejemplo de la Figura 20 se describe una deleción, desde el aminoácido en la posición 76 hasta el aminoácido en la posición 79. En el caso de que solo se deleccionara un solo aminoácido, solo se indicaría cuál es y su posición.
- Inserción de aminoácidos: en el ejemplo de la Figura 21, se puede ver que la secuencia GlnSerLys fue insertada entre el aminoácido Lisina (Lys), localizado en la posición 2, y el aminoácido Metionina (Met), localizado en la posición 3.
- Mutación frame-shift: en el ejemplo de la Figura 22, se muestra que en el codón número 62, una histidina, es reemplazada por una prolina, de modo que se genera un nuevo marco de lectura con un codón de STOP 21 aminoácidos después del codón número 62.



Figura 17: Mutación tipo *missense*.



Figura 18: Mutación tipo mismo sentido.

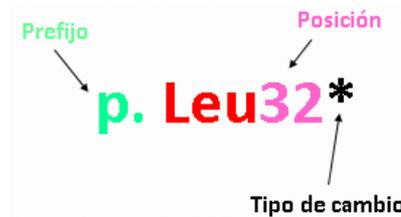


Figura 19: Mutación tipo *nonsense*.



Figura 20: Mutación tipo deleción.



Figura 21: Mutación tipo inserción.



Figura 22: Mutación tipo *frameshift*.

5. Tests genéticos

5.1. Test genéticos a nivel de cromosoma.

- **Cariotipo:** se trata de un análisis cromosómico en el cual se evalúa el número y estructura de los cromosomas. Se pueden encontrar anomalías tanto en el número como en la estructura o apariencia de los cromosomas. Si el número de cromosomas que presenta la célula analizada no es 46, esto repercute en una alteración en la cantidad del material genético y puede ocasionar tanto problemas del desarrollo como de salud.

Por otro lado, si la anomalía reside en la estructura cromosómica, las posibles consecuencias y su gravedad dependerán del cromosoma en el que se de dicha anomalía. Además, hay que tener en cuenta que los efectos varían según la persona que padezca dichas anomalías. Para hacer este tipo de pruebas solo se necesita una muestra de sangre del paciente.

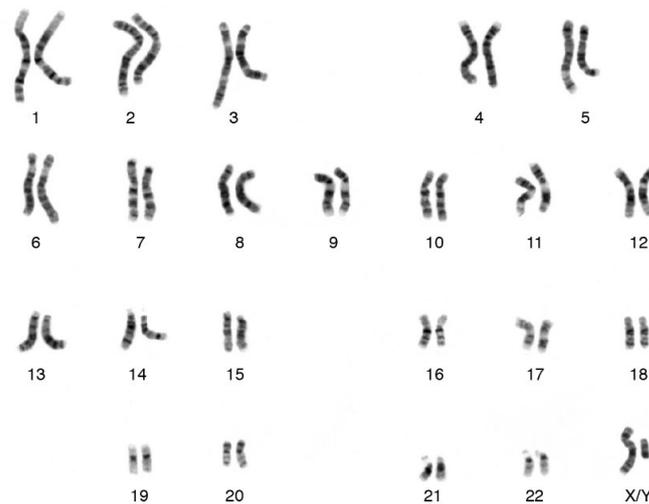


Figura 23: Cariotipo (<https://www.genome.gov/>).

- **Microarray cromosómico:** es una técnica de biología molecular que permite detectar cambios en la cantidad de ADN de una muestra comparándolo con un ADN de referencia normal. Con ella se consigue detectar pérdidas (deleciones) o ganancias de material genético (duplicaciones), como las anomalías numéricas de cromosomas diagnosticadas por cariotipo, pero con una mayor resolución, llegando al nivel de microdeleciones y microduplicaciones.

5.2. Test genéticos a nivel de gen

- **Técnicas de secuenciación de nueva generación o NGS (New Generation Sequencing):** se trata de un conjunto de técnicas de secuenciación genética (lectura en orden de los nucleótidos del ADN) que mejoran el proceso de secuenciación

original de Sanger. La secuenciación masiva tiene el potencial de detectar todos los tipos de variación genómica en un único experimento. Además permite secuenciar con muy poca cantidad de muestra. Se basa en identificar diferencias en la secuencia de ADN de un individuo al compararlo con un ADN de referencia.

- Secuenciación del exoma: el exoma es la porción codificante del genoma humano. Secuenciarlo es una estrategia muy utilizada a la hora de realizar un diagnóstico. Al ser la secuencia codificante, nos permite detectar si existen mutaciones en ella que después pueden repercutir cuando se produzca la proteína.

[Ref: Rodríguez Santiago, B., & Armengol, L. (2012). Tecnologías de secuenciación de nueva generación en diagnóstico genético pre- y postnatal. *Diagnóstico Prenatal*, 23(2), 56–66.]

6. Interpretación de variantes

6.1. Niveles de variantes o mutaciones

De modo general, se plantean 5 niveles (Figura 24). El significado e implicación de los niveles que pueden llegar a ser motivo de preocupación o alerta se comentan a continuación.

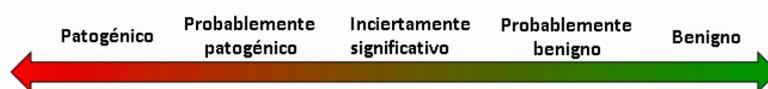


Figura 24: Niveles de mutaciones.

- **Patogénico:** Definitivamente causa enfermedad y existen múltiples líneas de evidencia que apoyan el papel de la variante o mutación en la causa de la enfermedad.
- **Probablemente patogénico:** muy probablemente será la causa de la enfermedad, con más de un 90 % de probabilidad, y existen múltiples líneas de evidencia apoyan el papel de la variante o mutación en la causa de la enfermedad.
- **Incierto:** no está claro qué papel juega en la enfermedad, las evidencias son insuficientes, y es muy recomendable discutir esta situación con el médico.

6.2. Criterios para la interpretación de mutaciones STXBP1

Cuando se recibe un diagnóstico, sobre todo si en él se indica una mutación que tiene fuertes evidencias de patogenicidad, aparecen algunas preguntas como: ¿es una mutación *de novo*? ¿Se ha descrito esta mutación en otros pacientes STXBP1?

La respuesta a la última pregunta se encuentra en la bibliografía, es decir, lo ideal es revisar en todas las publicaciones que traten sobre mutaciones implicadas en el Síndrome STXBP1. Y, en relación con la primera pregunta, una mutación *de novo* quiere

decir que es una mutación nueva y que normalmente no aparece en los progenitores. Además, la probabilidad de que los futuros hermanos padezcan el Síndrome STXBPI es generalmente baja (menos de un 1%). Aun así, a los padres que lo deseen se les podrían realizar un test genético para comprobarlo.

Por otro lado, en el informe se suele indicar, en función del tipo o nivel de la mutación:

- Mutación patogénica o probablemente patogénica: Se considera un diagnóstico definitivo y no son necesarias más pruebas genéticas.
- Mutación inciertamente significativa: es muy importante discutirlo con el médico, ya que pueden ser requeridos más test genéticos, tales como un test a los progenitores ya que, aunque es poco probable encontrar esas mutaciones en ellos, puede existir un pequeño porcentaje relacionado con el mosaicismo parental. Hablamos de *mosaicismo* cuando en un individuo, o en un tejido, hay dos o más líneas celulares con diferente información genética o cromosómica; el mosaicismo puede ocurrir en la línea germinal de alguno de los progenitores, en cuyo caso coexisten en la línea germinal (óvulos y espermatozoides) dos o más poblaciones celulares que difieren genéticamente.