

 **DRAVET
SYNDROME**
FUNDACIÓN

Ofreciendo esperanza y cambiando vidas
a través de la **investigación**



**Informe técnico del proyecto
de diagnóstico genético de pacientes con
síndrome de Dravet y espectros asociados**

Introducción

El objetivo principal de este proyecto es realizar un diagnóstico genético a aquellos pacientes que sufran síndrome de Dravet (SD), una encefalopatía epiléptica grave que se inicia durante el primer año de vida y que conlleva un deterioro neurológico del paciente. Dentro de este proyecto también se ofrecerá la realización de un diagnóstico genético a pacientes diagnosticados con otras epilepsias, con un espectro de gravedad que de menor a mayor incluirán a: convulsiones febriles, convulsiones febriles plus, epilepsia generalizada con convulsiones febriles plus, epilepsia mioclónica infantil límite y epilepsia infantil intratable.

La selección de pacientes que se incluirán en el estudio se realizará por los facultativos del INGEMM. A medida que se vaya avanzando en el proyecto, y con el objetivo de analizar exclusivamente a pacientes con SD, se podrá solicitar al facultativo solicitante más información clínica del paciente o una actualización de la historia clínica del mismo.

Inicialmente se realizará una búsqueda de alteraciones en los genes asociados hasta la fecha con el SD. Mutaciones puntuales y deleciones/duplicaciones totales o parciales del gen *SCN1A* son responsables del 70-80% de los casos de SD. Un 5% de los pacientes con SD, en su gran mayoría mujeres, presentan alteraciones (mutaciones puntuales y deleciones totales o parciales) en el gen *PCDH19*. De forma ocasional también se han identificado mutaciones puntuales en los genes *GABRG2*, *SCN2A* y *SCN1B*. Recientemente se ha propuesto que variantes del gen *SCN9A* podrían modificar negativamente el efecto de mutaciones en el gen *SCN1A*, si bien, faltan estudios funcionales que demuestren dicha teoría.

A pesar de los avances logrados en los últimos años, el defecto molecular responsable del 20% de los pacientes con SD continua siendo desconocido, por lo que el segundo gran objetivo de este proyecto es identificar nuevos genes implicados en el SD y también en sus espectros asociados.



Proyecto: fases y metodología

El primer paso será extraer ADN a partir de una muestra de sangre (u otro tejido) del paciente. A continuación, se iniciarán las distintas fases del proyecto:

Fase 1: Búsqueda de alteraciones en el gen *SCN1A* en pacientes con SD y espectros asociados.

En esta fase se analizará la presencia de alteraciones en el gen *SCN1A*, responsable de la mayoría de los casos de SD.

La detección de mutaciones puntuales en el gen *SCN1A* se realizará mediante amplificación por PCR de las regiones codificantes y de transición intrón-exón de dicho gen, y posterior secuenciación directa de los fragmentos amplificados.

El análisis de la presencia de deleciones y/o duplicaciones totales o parciales del gen *SCN1A* se realizará mediante MLPA (Multiplex Ligation dependent Probe Amplification).

Finalmente, se emitirá un informe con los resultados del estudio genético al facultativo solicitante de la prueba. El tiempo estimado de **entrega del informe** es de **4 meses**.

Fase 2: Búsqueda de alteraciones en el gen *PCDH19* en mujeres con SD y espectros asociados sin alteraciones en el gen *SCN1A*.

La presencia de alteraciones en el gen *PCDH19* se analizará sólo en aquellas mujeres con SD que no muestren alteraciones en el gen *SCN1A*, puesto que la presencia de alteraciones en dicho gen en hombres se considera extremadamente rara y difícil de detectar con las técnicas empleadas de forma habitual en los laboratorios de diagnóstico genético.

La detección de mutaciones puntuales en el gen *PCDH19* se realizará mediante amplificación por PCR de las regiones codificantes y de transición intrón-exón de dicho gen, y posterior secuenciación directa de los fragmentos amplificados.

El análisis de la presencia de deleciones y/o duplicaciones totales o parciales del gen *PCDH19* se realizará mediante MLPA.

En último lugar se emitirá un informe con los resultados del estudio genético al facultativo solicitante de la prueba. El tiempo estimado de entrega del informe está por determinar debido a que el test genético no está puesto a punto actualmente.



Fase 3: Búsqueda de alteraciones en los genes *GABRG2*, *SCN2A* y *SCN1B* en pacientes con SD y espectros asociados sin alteraciones genéticas identificadas.

Durante esta fase se analizará la presencia de alteraciones en aquellos genes que en menor medida también se han asociado con el SD.

La detección de mutaciones puntuales en los genes *GABRG2*, *SCN2A* y *SCN1B* se realizará mediante amplificación por PCR de las regiones codificantes y de transición intrón-exón de dichos genes, rastreo de mutaciones mediante HRM (High Resolution Melting) y posterior secuenciación de las variantes detectadas.

Finalmente, se emitirá un informe con los resultados del estudio genético al facultativo solicitante de la prueba. El tiempo estimado de entrega del informe está por determinar debido a que el test genético no está puesto a punto actualmente.

Fase 4: Búsqueda de variaciones en el gen *SCN9A* que modifiquen el fenotipo de familias con SD y espectros asociados que presenten alteraciones en el gen *SCN1A*

En aquellas familias que presenten miembros con la misma alteración en *SCN1A* pero con distintos fenotipos, se determinará si variaciones en el gen *SCN9A* modifican el efecto de la mutación familiar en *SCN1A*.

La detección de mutaciones puntuales en el gen *SCN9A* se realizará mediante amplificación por PCR de las regiones codificantes y de transición intrón-exón de dichos genes, rastreo de mutaciones mediante HRM y posterior secuenciación de las variantes detectadas.

Al ser esta fase de investigación, los resultados de la misma sólo serán informados al facultativo cuando tengan una implicación significativa para la salud de los participantes.

Fase 5: Búsqueda de nuevas alteraciones genéticas implicadas en el síndrome de Dravet mediante tecnología novedosa

Con el objetivo de identificar las alteraciones genéticas responsables del fenotipo de SD diagnosticado a aquellos pacientes con defecto genético desconocido, se utilizarán las tecnologías más novedosas existentes actualmente: secuenciación masiva del exoma y array de CGH (Comparative Genomic Hybridization).



La secuenciación masiva del exoma es una técnica que permite detectar en un mismo ensayo mutaciones puntuales en todas las regiones codificantes del genoma humano. Se ha estimado que mutaciones en dichas regiones suponen el 85% de las mutaciones responsables de enfermedad. Esta técnica podría identificar nuevos genes asociados con el SD.

El array de CGH es una técnica que permite analizar en un solo experimento todo el genoma de un individuo en busca de cualquier posible alteración por ganancia o pérdida de material genético. Dichas alteraciones, también conocidas como CNVs (Copy Number Variations), son responsables de un 5-10% de los casos de otras patologías. Esta herramienta diagnóstica permitirá identificar CNVs patogénicas en genes hasta ahora no relacionados con el SD.

Al ser esta fase de investigación, los resultados de la misma sólo serán informados al facultativo cuando tengan una implicación significativa para la salud de los participantes.

