

## GENES E EPILEPSIA I: EPILEPSIA E ALTERAÇÕES GENÉTICAS

DANIEL L. G. GITAI<sup>1</sup>, RODRIGO N. ROMCY-PEREIRA, LÍVIA L. G. GITAI, JOÃO P. LEITE, NORBERTO GARCIA-CAIRASCO, MARIA LUISA PAÇO-LARSON

Trabalho realizado na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP

### RESUMO

**INTRODUÇÃO.** Epilepsia é uma desordem neurológica caracterizada por crises espontâneas e recorrentes, que afeta de 2% a 3% da população mundial. As crises epiléticas refletem atividade elétrica anormal e paroxística, preferencialmente em uma ou várias áreas do córtex cerebral, que podem ser causadas por inúmeras patologias estruturais ou neuroquímicas. Dentre os importantes estudos das últimas décadas no campo da epileptologia, destaca-se a identificação de genes associados a certos tipos de epilepsia.

**OBJETIVO.** Nesta revisão, descrevemos as principais alterações genéticas associadas ao processo epileptogênico, discutindo as mais recentes descobertas e suas contribuições para a compreensão das bases genéticas das epilepsias idiopáticas monogênicas (EIM) e das epilepsias geneticamente complexas.

**RESULTADOS E CONCLUSÃO.** Estudos de ligação e associação mostram que alterações em genes que codificam canais iônicos são as principais causas genéticas das epilepsias idiopáticas monogênicas e de predisposição nas epilepsias geneticamente complexas. Além disso, as síndromes nas quais a epilepsia é um aspecto importante do quadro clínico podem ser provocadas por genes envolvidos em diferentes vias celulares, tais como: migração neuronal, metabolismo de glicogênio e cadeia respiratória. Portanto, acredita-se que diferentes categorias de genes possam atuar na determinação do traço epilético. A identificação de tais famílias de genes não apenas nos ajudará a entender as vias moleculares associadas à hiperexcitabilidade neuronal e ao processo epileptogênico, mas também poderá conduzir ao desenvolvimento de novas e mais precisas estratégias de tratamento da epilepsia.

**UNITERMOS:** Mutação. Polimorfismo de nucleotídeo único. SNP. Epilepsia idiopática. Canal iônico.

### \*Correspondência

Laboratório de Biologia  
Celular e Molecular  
Instituto de Ciências  
Biológicas e da Saúde - ICBS  
Universidade Federal de  
Alagoas  
Praça Afrânio Jorge, s/n -  
Prado  
CEP 57010-020 - Maceió - AL  
Tel: (82) 3223-5613 R 220 /  
(82) 9118-9511  
danielgitai@gmail.com

### INTRODUÇÃO

Epilepsia é um tipo de disfunção cerebral caracterizada clinicamente por alterações comportamentais súbitas ("crises epiléticas") que tendem a se repetir ao longo da vida do paciente. Essas crises refletem atividade elétrica anormal e paroxística, acometendo preferencialmente uma ou várias áreas do córtex cerebral e podem ser causadas por inúmeras patologias estruturais ou neuroquímicas<sup>1,2</sup>. Há, portanto, uma diferença entre a definição de epilepsia e de crise epilética. Em geral, o diagnóstico de epilepsia implica uma anormalidade epileptogênica persistente do cérebro, provocando crises recorrentes e espontâneas. Em contraposição, pessoas sem epilepsia podem apresentar crise epilética provocada por atividade elétrica anormal como resposta isolada do cérebro a um insulto transitório ou a perda de homeostase. Assim, epilepsia presume a existência de uma anormalidade epileptogênica intrínseca, endógena ao próprio cérebro e que está presente mesmo entre as crises, independente de qualquer condição ou insulto agudo. Esta propriedade do "cérebro epilético" pode gerar crises recorrentes durante um período de tempo relativamente curto, ou durante muitos anos, ou mesmo durante toda a vida do indivíduo<sup>3</sup>. Devido a fatores como alta prevalência (1% - 3% da população mundial), gravidade, morbidade e impacto socioeconômico, as pesquisas científicas no campo da epileptologia têm adquirido caráter prioritário nas políticas de saúde pública<sup>4,5</sup>. Uma das frentes de estudo

que tem evoluído muito nas últimas décadas diz respeito às investigações de vias moleculares associadas ao processo epileptogênico. Muitos esforços têm sido realizados para identificar genes associados à epilepsia<sup>6,7</sup>. Neste trabalho, descrevemos e discutimos os resultados mais relevantes, obtidos em estudos com pacientes e em modelos experimentais. Para fins de maior clareza, a revisão foi dividida em duas partes: a primeira trata das bases genéticas das epilepsias idiopáticas monogênicas e das epilepsias geneticamente complexas; a segunda refere-se aos genes que apresentam expressão modulada pelas crises epiléticas.

### Processo epileptogênico

A atividade epilética cerebral pode ser desencadeada por diversos fatores, e por isso a epilepsia é considerada uma disfunção complexa e multifatorial. Existem duas categorias etiológicas básicas: a) distúrbio epileptogênico específico, que gera epilepsia em indivíduos susceptíveis; b) fatores precipitantes, que são perturbações endógenas ou exógenas e que evocam crises epiléticas agudas em determinados períodos de tempo<sup>8</sup>. Os distúrbios epileptogênicos específicos podem ser lesões como trauma, infecção, neoplasia, malformação vascular; malformações congênitas e anormalidades genéticas, como mutações gênicas pontuais ou aberrações cromossômicas. Nos casos em que é possível identificar e tratar esses distúrbios (ex.: remoção cirúrgica de

neoplasia), a condição epiléptica é abolida. É interessante notar que várias vias celulares associadas a esses insultos, tais como, morte celular (por apoptose ou necrose), reorganização axonal, inflamação e astrogliose, também ocorrem de forma secundária às crises recorrentes. Portanto, as próprias crises epiléticas, potencialmente, poderiam perpetuar ou agravar, em maior ou menor grau, o processo de epileptogênese<sup>9, 10</sup>.

Fatores como consumo de álcool, febre e privação de sono podem precipitar crises ocasionais em muitas pessoas com epilepsia ou causar crises reativas em indivíduos sem epilepsia. Esses indivíduos, porém, têm uma sensibilidade específica a determinados fatores<sup>8</sup>.

A natureza do distúrbio epileptogênico é essencial para classificação etiológica das epilepsias. Neste sentido, as epilepsias generalizadas e focais têm sido classificadas em sintomáticas, idiopáticas ou provavelmente sintomáticas<sup>11, 12</sup>. As epilepsias sintomáticas são aquelas em que é possível a detecção de lesões anatômicas ou histológicas, como nos casos de neoplasias ou malformações. Quando não é possível a detecção da disfunção primária da epilepsia sintomática, esta é denominada "provavelmente sintomática" (anteriormente chamada de criptogênica). Nas epilepsias idiopáticas, por sua vez, o processo de epileptogênese não é atribuído a nenhum insulto endógeno ou exógeno específico. Neste caso, diz-se que a epilepsia é própria do indivíduo (*idios* - próprio; *pathos* - doença). Hoje, sabe-se que a maioria das epilepsias idiopáticas é causada por mutações genéticas<sup>6, 13</sup>.

Por outro lado, é importante constatar que tanto os distúrbios epileptogênicos quanto os fatores precipitantes não são suficientes para a ocorrência de crises epiléticas, idiopáticas ou sintomáticas, as quais dependem, também e necessariamente, do limiar de susceptibilidade do indivíduo à epilepsia. É possível que o limiar de susceptibilidade à epilepsia seja determinado por uma ação sinérgica entre inúmeros fatores de predisposição inespecíficos, destacando-se o *background* genético do indivíduo, como componente importante nesse processo<sup>8</sup>.

De um modo geral, indivíduos com alto limiar de susceptibilidade à epilepsia não apresentam crises epiléticas mesmo quando expostos a distúrbios epileptogênicos e/ou fatores precipitantes de crises. Por outro lado, indivíduos com baixo limiar de susceptibilidade apresentam crises crônicas ou reativas quando expostos, respectivamente, a distúrbios epileptogênicos ou a fatores precipitantes de crises. Nesse último caso, a ação combinada desses elementos influenciará na gravidade e frequência das crises, podendo levar, em uma situação extrema, à instalação de *status epilepticus* (SE).

Buscando uma visão sintética do processo de epileptogênese, com base no discutido acima, podemos inferir que os distúrbios epileptogênicos e fatores precipitantes, em um ambiente genético facilitador, induzem alterações em determinadas vias moleculares, as quais interferem, direta ou indiretamente, nos circuitos elétricos cerebrais, podendo ocasionar a emergência das crises epiléticas. Estas, por sua vez, provocam alterações moleculares e histológicas secundárias, as quais eventualmente podem contribuir para a progressão das crises. A identificação dessas vias moleculares é essencial para o entendimento do processo epileptogênico e, por conseguinte, abre perspectivas para ações preventivas e intervenções terapêuticas mais efetivas.

## Genes e epilepsia

Muitos dos aproximadamente 30 mil genes humanos podem estar associados à epilepsia por meio de alterações genéticas ou de alterações na expressão gênica. As alterações genéticas são aquelas que ocorrem na estrutura física do gene, como as mutações ou polimorfismos, e contribuem para epileptogênese agindo diretamente como causa primária ou, indiretamente, no estabelecimento do limiar de susceptibilidade. Embora algumas dessas alterações possam ser adquiridas de novo, a maior parte delas é transmitida hereditariamente. Por outro lado, as alterações de expressão gênica são aquelas que interferem estritamente na modulação da atividade gênica, sem o envolvimento de lesões físicas no DNA. Esse tipo de alteração geralmente reflete mudanças nos níveis ou na localização dos produtos gênicos e é deflagrada por insultos epileptogênicos.

A alteração genética é causa primária da epilepsia quando o seu efeito é determinante para o estabelecimento das crises recorrentes. Neste caso, os pacientes geralmente são portadores de mutações em um único *locus* gênico, o que confere ao traço epilético um padrão Mendeliano de herança. Tais grupos de epilepsia são os do tipo idiopático, sendo denominadas de epilepsias idiopáticas monogênicas ou Mendelianas (EIM). Por outro lado, quando uma alteração genética atua aumentando discretamente o risco de ocorrência de crises epiléticas recorrentes, diz-se que ela contribui para o estabelecimento do limiar de susceptibilidade, e os genes portadores de tais lesões são denominados de genes de susceptibilidade. Pressupõe-se que muitas dessas alterações são polimórficas, do tipo SNPs (*Single Nucleotides Polymorphisms*), e podem induzir pequenas alterações fisiológicas na atividade de proteínas portadoras. Os genes de susceptibilidade, isoladamente, não são determinantes para a ocorrência de epilepsia, mas dependem de uma ação aditiva ou epistática de outros genes e/ou fatores ambientais. Os efeitos de cada gene no limiar de susceptibilidade, portanto, vão depender do genótipo em outros *loci* (interação gene-gene) e da história de exposição a fatores ambientais (interação gene-ambiente)<sup>14-17</sup>. Pelo fato de muitos genes contribuírem para o fenótipo e devido ao envolvimento de múltiplos fatores ambientais, considera-se que tais desordens seguem o modelo poligênico-multifatorial<sup>18</sup>. Nesse modelo se enquadram tanto as epilepsias idiopáticas não-monogênicas quanto as epilepsias sintomáticas, tendo a primeira uma influência genética muito maior do que a segunda, que envolve principalmente alterações no controle da expressão gênica<sup>19</sup>. Embora exista uma influência genética na susceptibilidade a crises provocadas por insulto ambiental, o que justifica o fato de que somente um subconjunto de indivíduos expostos aos mesmos insultos desenvolva epilepsia, inúmeros estudos têm mostrado que o risco genético de um familiar desenvolver crises epiléticas é maior quando o probando tem epilepsia idiopática comparado com os que têm epilepsia sintomática<sup>17, 20</sup>. Este tipo de consideração é importante principalmente no âmbito do processo de aconselhamento clínico.

Pode-se dizer, então, que de uma maneira geral, os genes estão envolvidos no processo epileptogênico por três modos diferentes: sendo causa primária, determinando o limiar de susceptibilidade ou respondendo por meio de expressão diferencial a insultos epileptogênicos. Neste sentido, enquanto as EIM têm contribuído na identificação de genes que agem como causa primária, as epilepsias

Tabela 1 - Mutações associadas a diferentes tipos de síndromes epiléticas

Tipo de epilepsia	Herança <sup>1</sup>	Locus	Gene	Proteína	Ref.
<b>Síndromes epiléticas benignas</b>					
Convulsões neonatais familiares benignas	AD	20q	KCNQ2	Canal de potássio voltagem-dependente	(41)
		8q	KCNQ3		
Crises neonatais infantis familiares benignas	AD	2q	SCN2A	Subunidade 2 $\alpha$ do canal de sódio voltagem-dependente	(42)
Convulsões infantis familiares benignas	AD	19q	Desconhecido	Desconhecido	(43)
		16p	Desconhecido	Desconhecido	
		2q	Desconhecido	Desconhecido	
<b>Epilepsias idiopáticas parciais</b>					
Epilepsia do lobo frontal autossômica	AD	20q13.2	CHRNA4	Subunidade 4 $\alpha$ do receptor nicotínico de acetilcolina.	(44)
Dominante noturna.		15q24	Desconhecido	Desconhecido	
		1 (pericêntrico)			(45)
Epilepsia do lobo temporal com sintomas auditivos	AD	10q	LGI1	Epitempina	(46)
Epilepsia parcial com foco variável	AD	2q	Desconhecido	Desconhecido	(45)
		22q	Desconhecido	Desconhecido	
Epilepsia rolândica com distonia paroxística induzida por exercício e câmbra do escrívão	AR	16p	Desconhecido	Desconhecido	(47)
<b>Epilepsias idiopáticas generalizadas</b>					
Epilepsia mioclônica juvenil	AD	6p	Desconhecido	Desconhecido	(22)
		15q	Desconhecido	Desconhecido	
		5q34	GABRA1	Subunidade 1 $\alpha$ do receptor de GABA <sub>A</sub>	
Epilepsia mioclônica familiar do adulto	AD	8q24	Desconhecido	Desconhecido	(48)
		2p	Desconhecido	Desconhecido	
Crises febris familiares	AD	8q (FEB1)	Desconhecido	Desconhecido	
	AD	19p (FEB2)	Desconhecido	Desconhecido	
	AD	5q14 (FEB4)	Desconhecido	Desconhecido	(49)
	AD	6q (SFS)	Desconhecido	Desconhecido	
Epilepsia generalizada com crises febris+	AD	19q (GEFS + 1)	SCN1B	Subunidade 1 $\beta$ do canal de sódio voltagem-dependente	
	AD	2q31 (GEFS + 2)	SCN1A	Subunidade 1 $\alpha$ do canal de sódio voltagem-dependente	
	AD	2q31	SCN2A	Subunidade 2 $\alpha$ do canal de sódio voltagem-dependente	(49)
	AD	5q31 (GEFS + 3)	GABRG2	Subunidade $\gamma 2$ do receptor GABA <sub>A</sub>	
Epilepsia mioclônica severa da infância	De novo ou transmitida	2q31	SCN1A	Subunidade 1 $\alpha$ do canal de sódio voltagem-dependente	(50)

<sup>1</sup>AD: autossômica dominante; AR: autossômica recessiva.

complexas (idiopáticas e sintomáticas) têm sido objetos de pesquisa dos genes de susceptibilidade. As epilepsias sintomáticas, em particular, também vêm sendo muito importantes nas pesquisas de genes que sofrem modulação de expressão em resposta a insultos epileptogênicos. Nos tópicos subseqüentes, abordaremos a questão das alterações genéticas no processo epileptogênico, discutindo que tipo de informação vem sendo gerada, e como esses achados têm contribuído para o estudo das bases genéticas das epilepsias idiopáticas monogênicas e das epilepsias geneticamente complexas.

### Epilepsias idiopáticas monogênicas

As epilepsias idiopáticas mendelianas são as mais raras. As crises epiléticas podem seguir um perfil generalizado ou parcial e geralmente apresentam uma evolução benigna. Devido ao fato de que, nesses casos, mutações em um único *locus* gênico conferem um efeito maior no estabelecimento das crises, o traço epilético apresenta um padrão de segregação Mendeliano que geralmente é do tipo autossômico<sup>21-23</sup>.

Nas últimas décadas tem ocorrido um esforço muito grande para identificar genes responsáveis pelas epilepsias monogênicas. Esta investigação vem sendo realizada, principalmente, por meio de estudos de ligação acoplados à clonagem posicional. Tal abordagem envolve quatro etapas principais: 1) identificação de famílias contendo múltiplos indivíduos afetados; 2) estabelecimento de diagnóstico de maneira criteriosa para todos os membros da família; 3) análises de ligação para localizar a região cromossômica que está co-segregando com o traço epilético; 4) seqüenciamento de genes localizados na região cromossômica ligada para identificar a(s) mutação(ões) que poderia(m) estar causando a emergência das crises epiléticas<sup>24</sup>.

Até o momento, foram identificados 12 genes que atuam como causa primária das epilepsias idiopáticas (Tabela 1).

Desde que quase todos esses genes codificam subunidades de canais iônicos moduladores da atividade neural, têm-se referido a esse grupo de epilepsias como canalopatias<sup>25</sup>. Os canais envolvidos nas epilepsias idiopáticas monogênicas pertencem à classe de canais

voltagem dependentes, que são importantes para geração e controle do potencial de ação, ou à classe dos canais ligantes dependentes, que estão envolvidos, principalmente, com a transmissão sináptica. Mutações em canais de sódio, potássio e cloro voltagem-dependente, tanto quanto mutações em receptores de acetilcolina e GABA (ácido aminobutyrico-?, subunidade A) causam diferentes formas de epilepsias idiopáticas. Essas mutações induzem à crise, provavelmente, por mecanismos que levam a uma facilitação dos estímulos excitatórios ou um impedimento das vias inibitórias. Por exemplo, as vias inibitórias podem ser prejudicadas, diretamente, pela presença de um receptor GABA mutado, ou indiretamente, por meio de mutação em um canal de cloro voltagem dependente, que são responsáveis pela via de influxo de cloro associado a respostas gabaérgicas<sup>26-28</sup>. Mutações de perda de função da subunidade  $\beta$  dos canais de sódio voltagem-dependente diminuem o ritmo de inativação dos canais e causam hiperexcitabilidade por meio do aumento de influxo de sódio. Mutações em subtipos específicos de canais de potássio responsáveis pela repolarização da membrana levam a uma despolarização neuronal prolongada e, portanto, a um aumento na frequência de potenciais de ação.

Os exemplos citados acima mostram que canais mutados podem causar uma hiperexcitabilidade neuronal por meio de inúmeros mecanismos patogênicos. Deste modo, a despeito da importância dos canais iônicos nas epilepsias idiopáticas, deve-se considerar que alterações em outras proteínas podem também levar a uma hiperexcitabilidade neuronal. Um dos genes associados à EIM e que não pertence ao grupo de canais iônicos é *LgI1* (*leucine rich gene, glioma inactivated*). Mutações neste gene foram associadas à ADLTE (epilepsia do lobo temporal lateral autossômica dominante). Em camundongos foi mostrado que uma deleção parcial no gene *MASS/VLGR1* (*very large G-protein coupled receptor*) é a causa de epilepsia audiogênica autossômica recessiva na cepa *FRINGS*. Existe um relato que a mutação em um ortólogo humano desse gene está associada a uma forma rara de convulsão febril<sup>13</sup>. Análises comparativas das seqüências dessas proteínas mostraram que elas compartilham uma região contendo repetições diretas de 50 resíduos de aminoácidos, que forma uma estrutura do tipo  $\beta$ -pregueada característica de domínios envolvidos em interações proteína-proteína. Uma vez que tal região foi encontrada no produto dos dois únicos exemplos de genes não canais iônicos associados à epilepsia, essa região foi denominada de região associada à epilepsia e é provável que promova a formação de complexos protéicos com significado fisiológico no processo epileptogênico. De fato, recentemente foi demonstrado que a *LgI1* é uma proteína secretada que, por meio desse domínio  $\beta$ -pregueada, interage diretamente com a proteína transmembranaral *ADAM22*. *ADAM22* é uma proteína ancorada ao complexo de densidade pós-sináptica por meio da proteína *PSD-95*. Esse complexo regula a transmissão sináptica mediada por receptores de glutamato do tipo *AMPA*<sup>29</sup>. Em estudo independente, foi relatado que *LgI1* forma um complexo com canal de potássio voltagem dependente contendo a subunidade *Kv1.1* e inibe a inativação desses por meio da proteína regulatória citoplasmática *Kv $\beta$ 1*<sup>30</sup>.

É importante observar que mesmo nas epilepsias mendelianas há certa complexidade na correlação genótipo-fenótipo. Estudos nas famílias mostram que a penetrância dessas mutações é freqüentemente

menor do que 100%, e que a idade de início, bem como a gravidade do fenótipo, varia dentro da família<sup>24</sup>. Isto indica que genes modificadores (equivalentes aos genes de susceptibilidade para epilepsias complexas) influenciam os efeitos do gene mutado, modulando o fenótipo final. Assim, embora as epilepsias monogênicas sejam determinadas por mutação em um único gene, outros genes com efeitos menores e fatores ambientais podem modular a expressão do distúrbio. Isto explica o fato, por exemplo, de que mutações no mesmo gene podem produzir variados fenótipos epiléticos.

Além das epilepsias idiopáticas, existem mais de 200 síndromes monogênicas nas quais a epilepsia é um aspecto mais ou menos grave no quadro sintomatológico. Nessas síndromes, as crises epiléticas são acompanhadas de outros sintomas neurológicos, tais como retardo mental, demência ou ataxia. Ao contrário das epilepsias idiopáticas, a evolução dessas doenças geralmente não é benigna, destacando-se:

1) As epilepsias mioclônicas progressivas, como a doença de Unverricht-Lundborg e a doença de Lafora. Ambas as condições apresentam um padrão de segregação autossômico recessivo e as mutações genéticas responsáveis por essas doenças foram mapeadas, respectivamente, nos genes *CSTB* (*cystatina B, também stefina B*) e *laforina*. *CSTB* é membro da família das cistatinas do tipo 1, que são inibidores intracelulares de cisteína proteases e provavelmente atuam protegendo o organismo de proteólises deflagradas por proteases endógenas. A *laforina* atua como uma fosfatase, provavelmente envolvida na regulação do metabolismo de glicogênio<sup>31</sup>.

2) As lissencefalias são malformações cerebrais, caracterizadas em sua forma clássica ou *LIS1*, pela presença de uma superfície cerebral lisa e córtex espesso. Essa doença apresenta um padrão de segregação ligado ao cromossomo X, herdada predominantemente e está associada a mutações no gene da doublecortina (*DCX*). Este gene codifica uma proteína associada ao microtúbulo, envolvida no processo de migração neuronal<sup>32</sup>.

3) Desordens mitocondriais são caracterizadas por alterações no genoma mitocondrial, ou em genes nucleares, que afetam o metabolismo dos mitocôndrios. A *MERRF* (*Myoclonic epilepsy with ragged red fibres*) é a síndrome mitocondrial mais bem estudada e pode ser causada por mutações em pelo menos dois genes mitocondriais diferentes, *mttk* e *mttl1*, que codificam, respectivamente, para RNAs transportadores de lisina e leucina. Defeitos nesses genes resultam em graves defeitos na tradução de genes mitocondriais, causando deficiências na cadeia respiratória celular<sup>13, 33</sup>.

É interessante notar que os genes responsáveis pelas condições descritas acima estão envolvidos em diferentes vias celulares (como metabolismo do glicogênio, transporte de elétrons na cadeia respiratória e desenvolvimento cerebral), reforçando a idéia de que o processo epileptogênico não se limita a alterações primárias de canais iônicos.

### Epilepsias geneticamente complexas

O conceito de epilepsia geneticamente complexa reside na idéia de que muitos genes e fatores ambientais contribuem, por meio de uma ação sinérgica, para a sua etiologia. Neste caso, nenhum fator, isoladamente, teria um efeito determinante para o estabelecimento das crises epiléticas recorrentes. A grande maioria das síndromes epiléticas faz

parte deste grupo que encerram as epilepsias idiopáticas não monogênicas e as epilepsias sintomáticas. O componente genético nas epilepsias complexas apenas determina um limiar genético de susceptibilidade e, portanto, a história familiar dos pacientes é inconsistente com o padrão de herança mendeliano. As investigações de genes de susceptibilidade associados às epilepsias complexas têm avançado muito lentamente quando comparadas aos estudos realizados nos modelos de epilepsia idiopática monogênica. A natureza poligênica e multifatorial dessas desordens ocasiona uma série de restrições metodológicas. Nessas epilepsias, como o efeito da alteração em um gene contribui muito discretamente para o fenótipo final, o poder estatístico para detecção de ligação entre o gene e o traço epiléptico fica comprometido. Só recentemente é que estudos de associação têm sido usados, como alternativa aos estudos de ligação, para identificar genes associados à epilepsia e a outras desordens complexas<sup>19,34</sup>. Estes estudos buscam detectar alelos que contribuem para a predisposição ou proteção à epilepsia por meio da investigação de diferenças significativas na frequência de polimorfismos entre indivíduos epilépticos e indivíduos normais de uma mesma população. Polimorfismos com frequência significativamente maior nos indivíduos epilépticos estão localizados em genes que devem estar associados a mecanismos de susceptibilidade, enquanto os polimorfismos com frequência significativamente maior nos indivíduos não-epilépticos devem estar associados a haplótipos de proteção à epilepsia. Geralmente, os polimorfismos analisados são SNPs e a maioria dos estudos de associação tem focalizado nos polimorfismos presentes em determinados genes que, com base na sua função, são fortes candidatos a influenciar o limiar de susceptibilidade (tais como os genes que codificam canais iônicos). No entanto, recentemente os pesquisadores têm começado a considerar seriamente a aplicabilidade de estudos de associação em larga escala<sup>35</sup>.

Um grande número de estudos de associação nas epilepsias geneticamente complexas tem sido publicado. Muitos desses estudos, porém, não têm sido reprodutíveis devido a limitações como tamanho da amostra, falta de grupo controle apropriado e ausência de análises independentes em outras populações<sup>34</sup>. Assim, os estudos de associação acoplados a uma validação funcional dos polimorfismos são os que têm maior valor informativo. Com base nesses critérios, até agora apenas dois genes de susceptibilidade associados à epilepsia foram identificados. O canal de cálcio tipo T (CACNA1H), envolvido na regulação dos disparos neuronais, foi associado à epilepsia de ausência na infância (CAE); enquanto a subunidade gama do receptor GABA, envolvido na mediação de sinapses inibitórias, foi associado à epilepsia generalizada idiopática. Estudos em culturas de células demonstraram que polimorfismos nesses genes levam a alterações eletrofisiológicas compatíveis com susceptibilidade à epilepsia<sup>36</sup>. Assim, embora a investigação de genes de susceptibilidade associados à epilepsia ainda esteja numa etapa inicial, a estratégia de se acoplar uma validação funcional aos estudos de associação surge como uma abordagem de grande potencial.

### Estudos em modelos genéticos

Embora a maior parte das publicações baseadas em estudos de associação e ligação tenha se restringido a humanos, é interessante sinalizar que cepas selecionadas geneticamente podem ser utilizadas como ferramentas para o estudo das relações entre genética e epilepsias.

Por exemplo, dentre as existentes na literatura, cepas de roedores como os *Genetically epilepsy-prone rats (GEPRs)*, *Wistar audiogenic rats (WARS)*, camundongos *Frings*, *stargazer* e *lethargic* são extremamente úteis para o estudo da influência do *background* genético em múltiplos tipos de epilepsia generalizada primária, geralmente idiopáticas como as tônico-clônicas generalizadas e as ausências típicas<sup>25, 37-39</sup>.

Nesses modelos experimentais, a combinação de um *background* genético susceptível com experiência de crises induzidas por estímulos elétricos, químicos ou sensoriais gera um universo muito mais próximo da situação clínica do que aquele onde os modelos experimentais se baseiam na indução de crises em animais não selecionados geneticamente<sup>40</sup>.

### CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

O estabelecimento da condição epiléptica é um processo complexo e multifatorial, dependente de interações entre fatores epileptogênicos e o componente genético do indivíduo. De acordo com o grau de associação desses fatores na patogênese, as epilepsias podem ser classificadas em mendelianas ou monogênicas, quando uma mutação em um único *locus* gênico é suficiente para o estabelecimento da condição; e em epilepsias complexas ou poligênicas, quando o componente genético apenas determina um limiar de susceptibilidade. Durante a última década, grande progresso tem sido feito na descoberta de genes que causam ou que influenciam o estabelecimento da condição epiléptica. Tem-se observado que alteração em canais iônicos é uma das principais causas das epilepsias idiopáticas monogênicas e de predisposição nas epilepsias geneticamente complexas. Por outro lado, também se tem observado que as síndromes nas quais a epilepsia é um aspecto importante do quadro clínico podem ser provocadas por genes envolvidos em diferentes vias celulares, tais como: migração neuronal, metabolismo de glicogênio e atividade na cadeia respiratória. Assim, acredita-se que diferentes categorias de genes possam atuar na determinação do traço epiléptico. A identificação de tais famílias de genes não apenas nos ajudará a entender as vias moleculares associadas à hiperexcitabilidade neuronal e, por conseguinte, ao processo epileptogênico, mas deverá também levar ao desenvolvimento de novas e mais precisas estratégias de tratamento da epilepsia.

### AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer a todos os membros dos laboratórios envolvidos, assim como às agências financiadoras FAPESP, CNPq, CAPES, FAEPA e PROEX pelos auxílios destinados a pesquisa e ensino.

**Conflito de interesse:** não há

### SUMMARY

#### GENES AND EPILEPSY I: EPILEPSY AND GENETIC ALTERATIONS

**INTRODUCTION.** *Epilepsy is a neurological disorder characterized by spontaneous and recurrent seizures with an estimated prevalence of 2-3 % in the world population. Epileptic seizures are the result of paroxysmal and hypersynchronous electrical activity, preferentially in cortical areas,*

caused by panoply of structural and neurochemical dysfunctions. Recent advances in the field have focused on the molecular mechanisms involved in the epileptogenic process.

**OBJECTIVES.** In the present review, we describe the main genetic alterations associated to the process of epileptogenesis and discuss the new findings that are shedding light on the molecular substrates of monogenic idiopathic epilepsies (MIE) and on genetically complex epilepsies (GCE).

**RESULTS AND CONCLUSION.** Linkage and association studies have shown that mutations in ion channel genes are the main causes of MIE and of predisposition for GCE. Moreover, mutations in genes involved in neuronal migration, glycogen metabolism and respiratory chain are associated to other syndromes involving seizures. Therefore, different gene classes contribute to the epileptic trait. The identification of epilepsy-related gene families can help us understand the molecular mechanisms of neuronal hyperexcitability and recognize markers of early diagnosis as well as new treatments for these epilepsies. [Rev Assoc Med Bras 2008; 54(3): 272-8]

**KEY WORDS:** Mutation. SNPs. Idiopathic epilepsy.

## REFERÊNCIA

- Palmini CJ. Introdução à epilepsia clínica e classificação das epilepsias e crises epilépticas. São Paulo: Lemos; 1998.
- Chang BS, Lowenstein DH. Epilepsy. N Engl J Med. 2003;349(13):1257-66.
- Engel J Jr. Report of the ILAE classification core group. Epilepsia. 2006;47(9):1558-68.
- Sundqvist A. Epilepsy: a clinical diagnostic overview. Eur J Pain. 2002;6(Suppl A):21-5.
- Li LM, Sander JW. National demonstration project on epilepsy in Brazil. Arq Neuropsiquiatr. 2003;61(1):153-6.
- McNamara JO, Huang YZ, Leonard AS. Molecular signaling mechanisms underlying epileptogenesis. Sci STKE. 2006;2006(356):re12.
- Morimoto K, Fahnstock M, Racine RJ. Kindling and status epilepticus models of epilepsy: rewiring the brain. Prog Neurobiol. 2004;73(1):1-60.
- Engel J Jr. Concepts of epilepsy. Epilepsia. 1995;36(Suppl. 1):23-9.
- Pitkanen A, Sutula TP. Is epilepsy a progressive disorder? Prospects for new therapeutic approaches in temporal-lobe epilepsy. Lancet Neurol. 2002 Jul;1(3):173-81.
- Vezzani A, Granata T. Brain inflammation in epilepsy: experimental and clinical evidence. Epilepsia. 2005;46(11):1724-43.
- ILAE. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Epilepsia. 1989;30(4):389-99.
- Engel J Jr. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. Epilepsia. 2001;42(6):796-803.
- Steinlein OK. Genetic mechanisms that underlie epilepsy. Nat Rev Neurosci. 2004;5(5):400-8.
- Risch N, Merikangas K. The future of genetic studies of complex human diseases. Science. 1996;273(5281):1516-7.
- Risch NJ. Searching for genetic determinants in the new millennium. Nature. 2000;405(6788):847-56.
- Ottman R. Gene-environment interaction: definitions and study designs. Prev Med. 1996;25(6):764-70.
- Ottman R, Annegers JF, Risch N, Hauser WA, Susser M. Relations of genetic and environmental factors in the etiology of epilepsy. Ann Neurol. 1996;39(4):442-9.
- Falconer DS. The inheritance of liability to diseases with variable age of onset, with particular reference to diabetes mellitus. Ann Hum Genet. 1967;31(1):1-20.
- Ottman R. Analysis of genetically complex epilepsies. Epilepsia. 2005;46(Suppl 10):7-14.
- Winawer MR, Shinnar S. Genetic epidemiology of epilepsy or what do we tell families? Epilepsia. 2005;46(Suppl 10):24-30.
- Gourfinkel-An I, Baulac S, Nabbout R, Ruberg M, Baulac M, Brice A, et al. Monogenic idiopathic epilepsies. Lancet Neurol. 2004;3(4):209-18.
- Gardiner M. Genetics of idiopathic generalized epilepsies. Epilepsia. 2005;46 (Suppl 9):15-20.
- Hirose S, Mitsudome A, Okada M, Kaneko S. Genetics of idiopathic epilepsies. Epilepsia. 2005;46(Suppl 1):38-43.
- Winawer MR. Phenotype definition in epilepsy. Epilepsy Behav. 2006;8(3):462-76.
- Noebels JL. The biology of epilepsy genes. Annu Rev Neurosci. 2003;26(6):599-625.
- Baulac S, Huberfeld G, Gourfinkel-An I, Mitropoulou G, Beranger A, Prud'homme JF, et al. First genetic evidence of GABA(A) receptor dysfunction in epilepsy: a mutation in the gamma2-subunit gene. Nat Genet. 2001 May;28(1):46-8.
- Wallace RH, Marini C, Petrou S, Harkin LA, Bowser DN, Panchal RG, et al. Mutant GABA(A) receptor assembles into presynaptic Kv1 channels and inhibits inactivation by Kvbeta1. Neuron. 2006;49(5):697-706.
- Fernandez-Sanchez ME, Criado-Garcia O, Heath KE, Garcia-Fojeda B, Medrano-Fernandez I, Gomez-Garre P, et al. Laforin, the dual-phosphatase responsible for Lafora disease, interacts with R5 (PTG), a regulatory subunit of protein phosphatase-1 that enhances glycogen accumulation. Hum Mol Genet. 2003;12(23):3161-71.
- Gleeson JG, Allen KM, Fox JW, Lamperti ED, Berkovic S, Scheffer I, et al. Doublecortin, a brain-specific gene mutated in human X-linked lissencephaly and double cortex syndrome, encodes a putative signaling protein. Cell. 1998 9;92(1):63-72.
- Wallace DC, Lott MT, Lezza AM, Seibel P, Voljavec AS, Shoffner JM. Mitochondrial DNA mutations associated with neuromuscular diseases: analysis and diagnosis using the polymerase chain reaction. Pediatr Res. 1990;28(5):525-8.
- Tan NC, Mulley JC, Berkovic SF. Genetic association studies in epilepsy: "the truth is out there". Epilepsia. 2004;45(11):1429-42.
- Hirschhorn JN, Daly MJ. Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. Nat Rev Genet. 2005;6(2):95-108.
- Mulley JC, Scheffer IE, Harkin LA, Berkovic SF, Dibbens LM. Susceptibility genes for complex epilepsy. Hum Mol Genet. 2005;14(Spec No. 2):R243-9.
- Doretto MC, Fonseca CG, Lobo RB, Terra VC, Oliveira JA, Garcia-Cairasco N. Quantitative study of the response to genetic selection of the Wistar audiogenic rat strain (WAR). Behav Genet. 2003;33(1):33-42.
- Hosford DA, Lin FH, Wang Y, Caddick SJ, Rees M, Parkinson NJ, et al. Studies of the lethargic (lh/lh) mouse model of absence seizures: regulatory mechanisms and identification of the lh gene. Adv Neurol. 1999;79(2):239-52.
- White HS. Animal models of epileptogenesis. Neurology. 2002;59(9 Suppl 5):S7-S14.
- Garcia-Cairasco N, Rossetti F, Oliveira JA, Furtado MdA. Neuroethological study of status epilepticus induced by systemic pilocarpine in Wistar audiogenic rats (WAR strain). Epilepsy Behav. 2004;5(4):455-63.
- Cooper EC. Potassium channel: how genetic studies of epileptic syndromes open paths to new therapeutic targets and drugs. Epilepsia. 2001;42(Suppl 5):49-54.

42. Herlenius E, Heron SE, Grinton BE, Keay D, Scheffer IE, Mulley JC, et al. SCN2A mutations and benign familial neonatal-infantile seizures: the phenotypic spectrum. *Epilepsia*. 2007;48(6):1138-42.
43. Striano P, Lispi ML, Gennaro E, Madia F, Traverso M, Bordo L, et al. Linkage analysis and disease models in benign familial infantile seizure: a study of 16 families. *Epilepsia*. 2006;47(6):1029-34.
44. Combi R, Dalprà L, Tenchini ML, Ferini-Strambi L. Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy: a critical overview. *J Neurol*. 2004;251(8):923-34.
45. Ottman R. Progress in the genetics of the partial epilepsies. *Epilepsia*. 2001;42(Suppl 5):24-30.
46. Morante-Redolat JM, Gorostidi-Pagola A, Piquer-Sirerols S, Sáenz A, Poza JJ, Galán J, et al. Mutations in the LGI1/Epitempin gene on 10q24 cause autosomal dominant lateral temporal epilepsy. *Hum Mol Genet*. 2002;11(9):1119-28.
47. Guerrini R, Bonanni P, Nardocci N, Parmeggiani L, Piccirilli M, De Fusco M, et al. Autosomal recessive rolandic epilepsy with paroxysmal exercise-induced dystonia and writer's cramp: delineation of the syndrome and gene mapping to chromosome 16p12-11.2. *Ann Neurol*. 1999;45(3):344-52.
48. Sano A, Mikami M, Nakamura M, Ueno S, Tanabe H, Kaneko S. Positional candidate approach for the gene responsible for benign adult familial myoclonic epilepsy. *Epilepsia*. 2002;43(Suppl 9):26-31.
49. Iwasaki N, Nakayama J, Hamano K, Matsui A, Arinami T. Molecular genetics of febrile seizures. *Epilepsia*. 2002;43(Suppl 9):32-5.
50. Fujiwara T. Clinical spectrum of mutations in SCN1A gene: severe myoclonic epilepsy in infancy and related epilepsies. *Epilepsy Res*. 2006;70(Suppl 1):S223-S30.

---

Artigo recebido: 06/08/07  
Aceito para publicação: 30/01/08

---