



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

DANIELA DOS SANTOS DINIZ

**Importância das mutações no gene *SCN1A* no tratamento
da epilepsia**

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE PEDIATRIA

Trabalho realizado sob a orientação de:
ORIENTADORA: Cristina Duarte Pereira
COORIENTADORA: Joana Barbosa Melo

Janeiro/2022

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Importância das mutações no gene *SCN1A* no tratamento da epilepsia

Artigo de Revisão

Área científica de Pediatria

Daniela dos Santos Diniz
e-mail: nelinha.10@hotmail.com

Orientadora: Cristina Duarte Pereira
Coorientadora: Joana Barbosa Melo

Índice

Resumo	4
<i>Abstract</i>	5
Abreviaturas.....	6
Introdução	7
Métodos.....	8
Resultados	9
1. Gene <i>SCN1A</i>	9
2. Fenótipos associados a mutação do gene <i>SCN1A</i>	9
2.1. Síndrome Dravet.....	9
2.2. GEFS+-epilepsias genéticas com crises febris plus	11
2.3. Outros fenótipos.....	11
3. Do genótipo ao fenótipo.....	12
4. Importância da sequenciação genética do gene <i>SCN1A</i>	14
4.1. Diagnóstico	14
4.2. Tratamento.....	15
4.3. Prognóstico.....	18
4.4. Quando e como pesquisar a mutação <i>SCN1A</i>	18
5. Vacinação em Doentes com mutação <i>SCN1A</i>	19
6. Mutações no gene <i>SCN1A</i> e tratamento cirúrgico	21
7. Mutações no gene <i>SCN1A</i> e tratamento de precisão.....	21
Discussão e Conclusão	24
Adenda	26
Referências bibliográficas	27

Resumo

O gene *SCN1A*, que codifica a subunidade alfa do canal de sódio NaV1.1, é responsável pela regulação do transporte de sódio ao nível dos interneurônios inibitórios, regulando assim a sua excitabilidade. Indivíduos com mutações no gene *SCN1A* podem apresentar diversos fenótipos, desde portadores assintomáticos, crianças com convulsões febris simples e crises apiréticas, até graves encefalopatias epiléticas como a síndrome de Dravet (SD), com ou sem esclerose do hipocampo, ou outras encefalopatias epiléticas associadas a febre.

Sabe-se que 20% dos indivíduos com epilepsia apresentam epilepsia refratária à terapêutica e que a resistência à terapêutica origina uma redução da qualidade de vida destes indivíduos devido ao impacto físico e cognitivo das convulsões. Como tal, para compreender melhor o papel das variações no gene *SCN1A* no tratamento da epilepsia foi realizada uma pesquisa bibliográfica no período compreendido entre fevereiro e novembro de 2021.

Por meio desta pesquisa, conclui-se que as variantes do gene *SCN1A* devem ser pesquisadas em crianças previamente saudáveis, nas quais não se observam alterações na neuroimagem cerebral e desenvolvem convulsões prolongadas e resistentes ao tratamento durante o primeiro ano de vida, visto que a avaliação genética permite um diagnóstico mais precoce e evita a realização de exames mais invasivos. O conhecimento do gene mutado permite, pela compreensão da patofisiologia da doença, direcionar a terapêutica, evitando a utilização de fármacos que podem agravar o quadro clínico, como é o caso dos bloqueadores dos canais de sódio. O impacto na resposta à terapêutica resultado da presença de polimorfismos tem sido amplamente avaliado, sendo os polimorfismos mais estudados o rs2298771 e rs3812718. Contudo, ainda não existe um consenso sobre o papel destes polimorfismos na resposta à terapêutica. De momento, não é possível estabelecer uma correlação entre o genótipo e o fenótipo e estabelecer um prognóstico aos indivíduos com base nas variantes do gene *SCN1A*. Também, na cirurgia da epilepsia a presença de mutação no gene *SCN1A* leva a que o resultado não seja tão benéfico quanto ao desejado, pelo que o seu rastreio deve ser ponderado no pré-operatório. Adicionalmente, o conhecimento dos mecanismos pelos quais mutações no gene *SCN1A* conduzem a epilepsia têm permitido o desenvolvimento de terapias génicas, em especial para a síndrome de Dravet. As terapias génicas, atualmente em desenvolvimento, têm sobre tudo por base a tecnologia TANGO, a tecnologia CRISPR dCas9 e a Terapia de gene célula seletiva. Embora seja evidente a necessidade de estudos adicionais, tendo em conta a

informação atual, a presença de variantes no gene *SCN1A* tem impacto no diagnóstico, prognóstico e terapêutica dos indivíduos.

Palavras-chave: *SCN1A*, epilepsia, tratamento

Abstract

*The *SCN1A* gene encodes the alpha subunit of the NaV1.1 sodium channel, which regulates sodium transport at the inhibitory interneurons. Variations in this sodium transport affect the excitability of the inhibitory interneurons. Individuals with mutations in the *SCN1A* gene present a range of phenotypes, from asymptomatic carriers, children with simple febrile and afebrile seizures, to severe epileptic encephalopathies such as Dravet syndrome, with or without hippocampal sclerosis, or other epileptic encephalopathies associated with fever.*

*It is known that 20% of individuals with epilepsy have epilepsy that is refractory to therapy and that resistance to therapy leads to a reduction in the quality of life of these individuals due to the physical and cognitive impact of seizures. As such, to better understand the role of variations in the *SCN1A* gene in the treatment of epilepsy, a literature search was conducted between February and November 2021.*

*Through this research, it can be concluded that the variants of the *SCN1A* gene should be investigated in previously healthy children when no abnormalities are observed on the brain neuroimaging, and who develop prolonged and treatment-resistant seizures during the first year of life. The genetic evaluation allows an earlier diagnosis and avoids the performance of more invasive exams. Knowledge of the mutated gene allows, by understanding the pathophysiology of the disease, to direct the therapy and avoid the use of drugs that can worsen the clinical condition, such as sodium channel blockers. The impact on the response to therapy because of the presence of polymorphisms has been widely evaluated, with the most studied polymorphisms being rs2298771 and rs3812718. However, there is still no consensus on the role of these polymorphisms in the response to therapy. Additionally, now it is not possible to establish a correlation between genotype and phenotype and establish a prognosis for individuals based on *SCN1A* gene mutations. Also, in epilepsy surgery, the presence of the *SCN1A* mutation could result in an outcome worse than expected, so screening for this mutation should be considered before the surgery. Moreover, knowledge of the mechanisms by which mutations in the *SCN1A* gene results in epilepsy has allowed the development of gene therapies, especially for Dravet syndrome. Gene therapies currently under development are mostly based on TANGO technology, CRISPR dCas9 technology, and selective cell gene therapy. Although the need for additional studies is evident, referring to the current information, variations in the *SCN1A* gene play a role in the diagnosis, prognosis, and treatment of individuals.*

Keywords: *SCN1A, epilepsy, treatment*

Abreviaturas

CACNA1A: gene do canal de cálcio sensível a voltagem tipo 1A

CACNB4: gene do canal de cálcio auxiliar sensível a voltagem, subunidade beta 4

CRISPR: Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interespaçadas

EEG: eletroencefalograma

GEFS+: epilepsias genéticas com crises febris plus

ILAE: Liga Internacional Contra a Epilepsia

mRNA: RNA mensageiro

POLG: Gene da DNA polimerase do tipo gama, subunidade catalítica

RM: Ressonância magnética

SCN1A: gene do canal de sódio sensível a voltagem do tipo I, que codifica a subunidade alfa

SCN9A: gene do canal de sódio sensível a voltagem do tipo 9, que codifica a subunidade alfa

SD: Síndrome de Dravet

SNC: Sistema Nervoso Central

SUDEP: Morte súbita associada à epilepsia

TANGO: *Targeted Augmentation of Nuclear Gene Output*

Introdução

O gene *SCN1A* (OMIM ID 182389) codifica a subunidade alfa do canal de sódio NaV1.1, que se encontra sobretudo no cérebro, sendo responsável pelo transporte de sódio para o interior da célula controlando assim a neurotransmissão. Mutações no gene *SCN1A* podem conduzir a alteração destes canais, à redução do seu número ou produção de canais de sódio não funcionantes. Como tal, podem conduzir a um alargado espectro de fenótipos desde portadores assintomáticos, crianças com convulsões febris simples e crises focais até graves encefalopatias epiléticas como a síndrome de Dravet (SD), com ou sem esclerose do hipocampo, ou outras encefalopatias epiléticas associadas a febre. Nestas síndromes epiléticas, como em outras, a heterogeneidade fenotípica não está completamente explicada. Por exemplo, mutações que conduzam à perda de função deste gene são mais frequentemente associadas à síndrome de Dravet acompanhada de encefalopatia e atraso do desenvolvimento. Porém, podem ser observadas mutações com perda de função sem que o indivíduo apresente problemas do desenvolvimento. Por outro lado, fenótipos ligeiros raramente apresentam mutações *nonsense*.(1)

A caracterização genética num doente com epilepsia tem importância no seu diagnóstico, prognóstico, aconselhamento e tratamento. Esta importância para a terapêutica dos doentes advém de um cada vez maior conhecimento da função associada a cada gene mutado, permitindo a seleção e desenvolvimento de terapêuticas dirigidas quer a reparar função desse gene, quer a colmatar as consequências da sua afeção. Como exemplo da importância deste conhecimento temos a síndrome de Dravet que frequentemente resulta da perda de função do gene *SCN1A* e consequente perda de função dos canais de sódio dos neurónios inibitórios. Como tal, os indivíduos com SD não respondem ou podem mesmo ter a sua epilepsia agravada pelo uso de bloqueadores dos canais de sódio no seu tratamento.(2)

Este trabalho resulta da necessidade de sistematizar os conhecimentos obtidos nesta área, de modo a disponibilizar evidência sobre o impacto da presença de variantes no gene *SCN1A* na orientação terapêutica dos pacientes. Recorre-se, para tal, a uma revisão e resumo da literatura.

Métodos

Este trabalho pretende ser uma revisão narrativa da literatura disponível referente ao impacto da presença de variantes no gene *SCN1A* no tratamento de diversas epilepsias e síndromes epiléticas.

Na pesquisa e recolha de artigos, foram consultadas as bases de dados *PubMed* e *Cochrane Library* no período compreendido entre fevereiro e novembro de 2021. Os termos *MeSH* utilizados foram "*SCN1A*" AND "*Treatment*".

Na pesquisa literária, foram selecionados estudos realizados em humanos e alguns em animais que se mostraram relevantes, com restrição linguística para inglês. Foi dada preponderância a revisões sistemáticas, meta-análises e revisões narrativas. Foram também incluídos outros artigos e *guidelines* por serem considerados pertinentes. Um total de 514 artigos foram obtidos através da estratégia de pesquisa.

Posteriormente estes foram selecionados com base na análise do resumo e resultados de cada um.

Como critérios de exclusão dos artigos foi considerada a presença de artigos duplicados, artigos sem disponibilização completa do texto, artigos em que os objetivos não tinham relevância para este trabalho e artigos com conteúdo desatualizado e cuja informação atualizada se encontrava nos artigos mais recentes.

Tendo por base estes critérios, dos 514 artigos obtidos na pesquisa, 80 foram selecionados e constituem a base literária deste trabalho (fig.1).



Figura 1: Diagrama do processo de seleção da literatura

Resultados

1. Gene *SCN1A*

O gene do canal de sódio sensível a voltagem do tipo I, que codifica a subunidade alfa (*SCN1A*), está presente no braço longo do cromossoma dois, na região dois, banda quatro e sub-banda três, 2q24.3, e é composto por 26 exões. Variantes do gene *SCN1A* estão envolvidas em diversos tipos de epilepsias. O canal de sódio NaV1.1 é composto por quatro domínios, cada um deles constituídos por seis segmentos transmembranares (3) (fig.2). O canal de sódio NaV1.1 regula o transporte de sódio para os neurónios, sendo, portanto, essencial na criação de potenciais de ação, controlando assim a excitabilidade neuronal dos interneurónios inibitórios do hipocampo, córtex, cerebelo e tálamo. A perda ou redução da função do gene *SCN1A* altera a excitabilidade dos interneurónios inibitórios do hipocampo, córtex, cerebelo e do tálamo, mas não afeta os neurónios excitatórios pelo que se observa um desequilíbrio entre excitação e inibição, o que justifica o baixo limiar para as convulsões dos pacientes com esta mutação.(2)

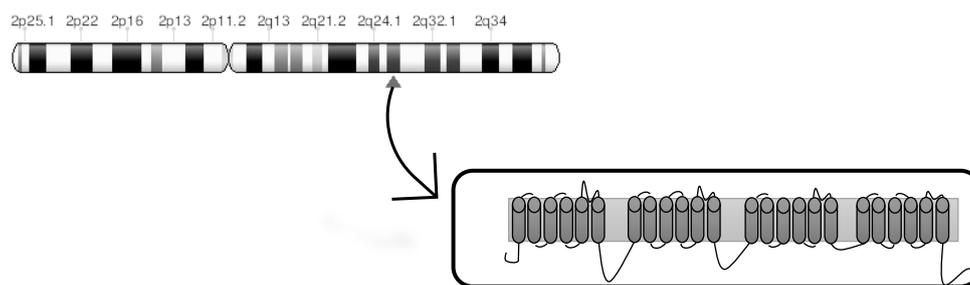


Figura 2. O gene *SCN1A* encontra-se localizado no 2q24.3 O gene *SCN1A* codifica a canal de sódio NaV1.a que é composto por quatro domínios, cada um deles constituídos por seis segmentos transmembranares.(3)

2. Fenótipos associados a mutação do gene *SCN1A*

2.1. Síndrome Dravet

A síndrome de Dravet (SD) é uma síndrome com incidência compreendida entre 1/15.000 e 1/40.000 casos por nascimento. Em mais de 80% dos casos são identificadas mutações no gene *SCN1A*, sobretudo do tipo *nonsense*, na maior parte são mutações *de novo*, mas entre cinco e dez por cento podem ser familiares sobretudo no caso de serem mutações *missense*.(4)

Normalmente, as crises epiléticas iniciam-se por volta dos seis meses de idade, predominantemente desencadeadas por subidas da temperatura corporal. As convulsões são normalmente tónico-clónicas, focais ou generalizadas. Posteriormente podem

apresentar também crises mioclônicas, ausências atípicas e até mesmo estados de mal epiléticos. Quanto ao desenvolvimento cognitivo este tende a ser normal até ao início das crises, porém ao longo do segundo ano de vida, o atraso no desenvolvimento cognitivo e/ou motor já é evidente, cerca de 60% apresentam nessa altura ataxia.(5) Para além disso, também se associam alterações do comportamento desde autismo, défice de atenção e hiperatividade, agressividade e irritabilidade, distúrbios do sono, dificuldade na alimentação, adicionalmente está descrito um risco superior de morte súbita associada à epilepsia (SUDEP). Inicialmente, o eletroencefalograma (EEG) é normal, perto dos dois anos de idade começa a observar-se uma lentificação do ritmo de base e descargas epiléticas interictais focais, multifocais ou generalizadas. Em termos imagiológicos a ressonância magnética (RM) não apresenta alterações quando se iniciam as convulsões, podendo ao longo do tempo surgir atrofia cerebral, atrofia cerebelosa e em alguns casos esclerose do hipocampo.(6) O diagnóstico desta síndrome resulta da integração da clínica com os resultados imagiológicos, do eletroencefalograma e da genética. A SD é uma epilepsia frequentemente resistente à terapêutica sendo necessária a associação de mais do que um antiepilético. Também deve ser tida em conta a contraindicação da utilização dos bloqueadores dos canais de sódio, pois podem agravar o quadro clínico. Sendo assim, a terapêutica atualmente passa, em primeira linha pelo uso de valproato de sódio; em segunda linha, pela adição de estiripentol e clobazam, o uso de topiramato, a dieta cetogénica, o uso de canabidiol ou o uso de fenfluramina; e numa terceira linha pelo uso de clonazepam, de levetiracetam, da zonisamida, da etossuximida, de fenobarbital, ou considerar a estimulação do nervo vago.(7) Contudo, mesmo após esta escalada terapêutica muitos doentes permanecem farmacorresistentes.(8) Para além do tratamento farmacológico há que abordar as diversas comorbilidades da SD com recuso a fisioterapia, terapia da fala, terapia ocupacional e gestão dos problemas do comportamento (fig.3). (7)

Tratamento Antiepilético		
1ª. Linha	2ª. Linha	3ª. Linha
<ul style="list-style-type: none"> • Valproato 	<ul style="list-style-type: none"> • Estiripentol+valproato+clobazam • Topiramato • Dieta cetogénica • Canabidiol • Fenfluramina 	<ul style="list-style-type: none"> • Clonazepam • Levetiracetam • Zonisamida • Etossuximida • Fenobarbital • Estimulação do nervo vago
Tratamento Não Farmacológico		
<ul style="list-style-type: none"> • Fisioterapia • Terapia ocupacional • Terapia da fala • Gestão dos problemas de comportamento 		

Figura 3: Tratamento na síndrome de Dravet

2.2. GEFS+-epilepsias genéticas com crises febris plus

Epilepsias genéticas com crises febris plus (GEFS+) é uma síndrome epilética genética da infância, que inclui um amplo espectro de manifestações clínicas, desde convulsões febris a convulsões febris plus, podendo ainda apresentar convulsões apiréticas tónico-clónicas generalizadas, crises apiréticas focais ou ausências. De entre os diversos genes causais associados, o *SCN1A* é o identificado com maior frequência. A sua transmissão é tipicamente autossómica dominante com penetrância incompleta, o que justifica a existência de variados fenótipos na mesma família. Habitualmente não se observam alterações neurológicas ou cognitivas. O eletroencefalograma pode ser normal ou apresentar atividade epilética generalizada ou focal. A ressonância magnética não apresenta alterações. Muitos não necessitam de terapêutica, mas quando necessário respondem bem à mesma.(9-11)

2.3. Outros fenótipos

Mutações do gene *SCN1A* estão associados a convulsões febris simples familiares, epilepsias focais, epilepsia mesial do lobo temporal com esclerose do hipocampo e convulsões febris, epilepsia mioclónico-atónica, encefalopatias epiléticas não SD, e ainda epilepsia da infância com convulsões focais migratórias.

A epilepsia mioclónico-atônica é uma epilepsia genética generalizada com início entre os sete meses e os seis anos de idade. Esta epilepsia é caracterizada pela ocorrência de diversos tipos de crises, como crises mioclônicas, atônicas, convulsões tônico-clônico generalizadas e ausências. No eletroencefalograma são observadas descargas epiléticas generalizadas com uma intensidade compreendida entre dois e quatro hertz. Os indivíduos com epilepsia mioclónico-atônica tanto podem ter um neurodesenvolvimento normal, como podem apresentar um neurodesenvolvimento gravemente comprometido.

A epilepsia da infância com convulsões focais migratórias é caracterizada pela presença de convulsões focais, as crises migram quer em termos clínicos, quer em termos eletroencefalográficos e imagiológicos, de um hemisfério cerebral para outro. Indivíduos com esta epilepsia iniciam crises frequentes pelos dois meses de idade. Tipicamente, estas crianças apresentam um grave atraso no desenvolvimento. (9)

3. Do genótipo ao fenótipo

Mais de 1000 variantes têm sido identificadas em pacientes com epilepsia.(12) Em 50% dos casos estas mutações são *de novo* e observadas sobretudo em pacientes com fenótipos mais graves como a SD. Cerca de 60% dos doentes com SD apresentam mutações *de novo*, enquanto no GEFS+ apenas 3.7% são *de novo*. (13) A correlação genótipo/fenótipo é complexa devido aos diversos padrões de hereditariedade e penetrância, assim como a influência de fatores ambientais que levam a que a mesma mutação condicione fenótipos diferentes em diferentes indivíduos.(14) Também a presença de mosaïcismo pode condicionar um fenótipo menos grave do que o esperado,(15) uma vez que diferente gravidade fenotípica está relacionada com a fração de alelo mutado presente no indivíduo. Por outro lado, o mosaïcismo justifica a presença de sintomas mais ligeiros ou mesmo a ausência destes em progenitores portadores da mutação.(16) A existência desta variabilidade está também descrita como podendo resultar da presença de mutações concomitantes nos genes *SCN9A*, *CACNA1A*, *POLG* e *CACNB4* que atuam como modificadores.(17)

As mutações do tipo truncante, levam ao surgimento de codões *stop* prematuros originando haploinsuficiência e são mais associadas à SD, entre 60 a 80% dos indivíduos com SD apresentam este tipo de mutação. É também descrita a presença de mutações *nonsense* nos fenótipos de maior gravidade, nomeadamente com uma progressão de doença mais rápida em especial o declínio cognitivo.(18)

Mutações do tipo *missense* conduzem a alterações do funcionamento dos canais de sódio e por sua vez a um fenótipo heterogéneo e tendencialmente menos grave,(12) caracteristicamente presente no GEFS+, em cerca de 90% dos casos. Porém, as mutações

missense localizadas na região do poro parecem estar associadas a um início mais precoce das convulsões, desenvolvimento de ataxia, aumento do risco das convulsões serem refratárias à terapêutica e até mesmo ao desenvolvimento de SD em 75% dos casos. (13, 19)

Na realidade, sugere-se que o fenótipo decorre de um espectro de função dos canais de sódio desde as mutações *missense* com redução de função com fenótipo mais ligeiro, até às mutações truncantes com total perda de função do gene e em consequência um fenótipo mais grave.(1)

Por sua vez, a mutação p.226Thr > Met foi associada a um fenótipo de extrema gravidade com início antes dos três meses de idade caracterizada por espasmos epiléticos, convulsões tónicas, movimentos hipercinéticos e ainda um desenvolvimento gravemente comprometido. Estudos indicam que esta mutação conduz a um ganho de função dos canais de sódio com hiperpolarização dos interneurónios conduzindo de forma paradoxal a um bloqueio da despolarização dos interneurónios resultando numa grande desinibição. (12) Outros autores, referem que em condições de baixa transmissão sináptica há um aumento da dos potenciais de ação, porém quando existe grande atividade sináptica, como é o caso das crises epiléticas, há uma perda da capacidade de gerar potenciais de ação por parte dos interneurónios inibitórios.(20)

Adicionalmente, polimorfismos específicos como é o caso de *SCN1A* IVS5N+5 G>A (rs3812718), a presença do alelo A foi associado a um risco superior para epilepsia ou convulsões febris, podendo a identificação desta variante funcionar como um rastreio de risco, motivando assim a toma de medidas preventivas em especial para as convulsões febris. Contudo, esta associação difere entre etnias e o motivo permanece pouco compreendido.(21)

Pacientes que apresentem o polimorfismo *SCN1A* c.3184A > G/p. Thr1067Ala (rs2298771) apresentam um menor risco de epilepsia em especial se forem homocigóticos. É de notar que foram excluídas crianças com síndrome de Dravet e GEFS+, a amostra era relativamente reduzida e seria necessário uma análise estratificada por etiologia da epilepsia e pelo tipo de tratamento antiepilético para conclusões mais robustas.(22) Contudo, noutros estudos, com população do norte da Índia(23) o genótipo AG está associado a maior suscetibilidade o mesmo se verificando na população iraniana. Já um estudo na população de Taiwan não encontrou qualquer associação. Porém num estudo com uma maior população envolvendo pacientes da Malásia, Índia e China o alelo G mostrou ter um efeito protetor. Assim, atualmente é difícil determinar se estas diferenças se devem a interações genéticas, a fatores ambientais ou simplesmente a diferentes metodologias de análise. (22)

4. Importância da sequenciação genética do gene *SCN1A*

A caracterização genética de um paciente com epilepsia tem um papel no diagnóstico, no tratamento, no prognóstico e no aconselhamento dos doentes.(2)

4.1. Diagnóstico

O estudo genético, permite um diagnóstico mais precoce, como foi observado em 13 crianças com síndrome de Dravet diagnosticado com auxílio da genética. Apenas 15% destes apresentavam alterações imagiológicas do sistema nervoso central (SNC) e na sua maioria não foram identificadas alterações no eletroencefalograma no primeiro ano de vida, reforçando assim a importância do diagnóstico genético, mesmo na ausência de alterações no EEG.(24) O diagnóstico e consequente início de tratamento mais precoce condicionam um melhor prognóstico cognitivo e de desenvolvimento.(25) Num estudo, 86% dos pacientes com SD foram tratados com medicamentos contraindicados por um período médio de 11 meses, tendo sido identificado uma maior probabilidade de declínio cognitivo. Isto tanto se pode dever ao efeito dos próprios fármacos como à ausência de medicação adequada o que conduziu a fenótipos epiléticos mais graves com maior frequência de crises. Alguns autores defendem que a cognição sofre declínio independentemente das crises, devido ao impacto no funcionamento nos canais de sódio, podendo explicar o prejuízo da medicação contraindicada. As maiores consequências do uso de fármacos contraindicados, observam-se no segundo ano de doença, pois um cérebro em desenvolvimento deve ser particularmente sensível a fármacos desadequados. Porém, indivíduos mesmo sem terem sido medicados de forma desadequada apresentam um grave declínio cognitivo, o que leva a pensar que o papel da toma prolongada de medicação contraindicada possa não ser tão preponderante. Segundo este estudo a medicação desadequada pode ter um papel de cerca de 14% na variabilidade de declínio cognitivo. Até porque deve ser tido em conta que fatores genéticos devem também eles ter impacto no declínio cognitivo e resposta à terapêutica. Tais factos salientam a necessidade de um diagnóstico precoce de forma que a abordagem clínica e terapêutica adequada seja iniciada o mais cedo possível. Muitos autores sugerem, a pesquisa de mutações do gene *SCN1A* em crianças com convulsões febris atípicas antes de se iniciar a terapêutica de manutenção.(26)

O diagnóstico evita que se proceda a investigações adicionais que podem ser demoradas e muitas delas invasivas. Na realidade, estima-se que reduza o custo da investigação etiológica em dois terços e a duração desta de três anos para 21 dias.(27) Contudo, é de salientar que esta abordagem poderá demorar a ser aplicada em países com menos poder económico.(14)

4.2. Tratamento

Ao nível do tratamento, o conhecimento da função do gene mutado permite, para além da compreensão da patofisiologia da doença, a seleção e desenvolvimento de fármacos direcionados ao alvo (gene mutado) ou que colmatem as consequências da mutação.(2) A resposta aos antiepiléticos é condicionada por diversos fatores, nomeadamente fatores farmacogenéticos, sendo os polimorfismos um dos fatores mais estudados. Como tal, a sequenciação genética pode ajudar os clínicos na escolha da estratégia terapêutica adequada a cada paciente. (28) Diversos estudos mostram que a avaliação genética conduziu a alterações terapêuticas dos indivíduos. Num estudo retrospectivo de 50 indivíduos, 48% dos quais com diagnóstico genético, aqueles em quem foram identificadas variantes em *SCN1A* levou à descontinuação da terapia com carbamazepina, lamotrigina e vigabatrina, (29) uma vez que nas mutações associadas aos canais de sódio não devem ser administrados bloqueadores destes mesmos canais, como terapêutica. Noutro estudo, após os resultados da sequenciação, a terapêutica foi alterada em oito dos 40 doentes.(30)

A avaliação genética contribui para o início da terapêutica mais adequada com base no diagnóstico, o que é especialmente importante nos indivíduos com SD em que pode ser equacionada a utilização estiripentol, dieta cetogénica, canabidiol ou fenfluramina. A utilização do estiripentol associado ao clobazam ou ao valproato de sódio mostrou conduzir a uma redução das convulsões prolongadas, das hospitalizações e do risco de estado de mal epilético. A dieta cetogénica é caracterizada por uma alimentação rica em gorduras, pobre em hidratos de carbono e com adequado aporte proteico. O uso da dieta cetogénica mostra, em diversos estudos, contribuir para a redução do número de convulsões, o aumento da qualidade de vida, a melhoria das alterações do comportamento, como a hiperatividade e a redução do número de medicamentos antiepiléticos necessários para o controlo da epilepsia. Adicionalmente, o uso de canabidiol tem mostrado contribuir para a redução da frequência das crises. O uso da fenfluramina também revelou eficácia na remissão de crises por longos períodos sem desenvolvimento de tolerância. Num estudo, sete de dez pacientes medicados com fenfluramina mantiveram remissão de crises durante pelo menos um ano.(31)

A avaliação e conhecimento da genética tem também um papel crucial no desenvolvimento de terapias génicas que utilizam o conhecimento dos genes alvo e da sua função no desenvolvimento de novas terapêuticas.

É de igual forma importante a realização destes estudos em diversas populações de forma a avaliar a variação genética entre as mesmas.(29)

A Liga Internacional Contra a Epilepsia (ILAE) define a epilepsia refratária como a falência no controlo das crises do doente epilético com dois fármacos, devidamente escolhidos e administrados em doses consideradas terapêuticas, em monoterapia ou em associação.(32)

A resistência a diversos antiepiléticos está presente em cerca de 20% das crianças com epilepsia o que tem consequências em termos físicos, psicossociais e na qualidade de vida. Adicionalmente, a exposição a maiores doses de fármaco podem condicionar alterações neuropsiquiátricas, alterações do comportamento e até morte súbita, uma vez que esta é mais comum em indivíduos com epilepsia resistente à terapêutica. (33) Estes indivíduos acarretam um custo de cerca de 15 biliões de euros de entre os gastos totais no tratamento da epilepsia na europa.(34)

A farmacoresistência depende de diversos fatores relacionados com a epilepsia do paciente como: etiologia da epilepsia, início precoce das crises, tipo de crises, síndrome epilético, existência de alterações estruturais cerebrais e das alterações observadas no EEG.

Contudo, podem também contribuir para farmacoresistência um diagnóstico incorreto, o uso de fármacos desadequados, a toma de doses insuficientes, o doseamento dos níveis do fármaco ser realizado com pouca frequência e problemas na adesão à terapêutica por parte do paciente.(35) Para além disso, alterações ao nível da farmacocinética e farmacodinâmica individual também contribuem para a refratariedade. As alterações genéticas podem ser a causa de vários destes fatores seja por redução da concentração sérica dos fármacos, por redução da absorção, aumento da eliminação, ou dificuldade de acesso do fármaco ao SNC, e ainda por alterarem os alvos terapêuticos destes fármacos. Fatores genéticos contribuem para uma variação entre 20 e 95% na eficácia da terapêutica.(36)

Um quinto dos doentes com epilepsia permanece refratário ao tratamento mesmo com dose otimizada. Frequentemente, recorre-se ao processo de tentativa/erro no sentido de encontrar a terapêutica adequada. Como tal, qualquer pista que possa indicar a resposta a determinado antiepilético é bastante atrativa, sendo aí que as variações genéticas têm o seu papel. O gene *SCN1A* que codifica para o canal de sódio Nav1.1 tem sido amplamente observado como potencial modificador na resposta aos antiepiléticos bloqueadores dos canais de sódio.(37) O rs2298771 e rs3812718 são dois polimorfismos que têm sido bastante avaliados quanto ao impacto na resposta à terapêutica com antiepiléticos, contudo os resultados são um pouco divergentes entre si.

Portanto, o polimorfismo rs3812718 G>A está associado a uma alteração no local de *splicing* que condiciona uma menor produção de proteína do tipo neonatal, presente na

região sensível à voltagem.(38) O impacto deste polimorfismo na resposta à terapêutica tem sido largamente avaliado, embora com resultados algo dispares. Este polimorfismo, em relação à resposta ao ácido valpróico tanto é indicado como fator favorecedor de uma melhor resposta quando o genótipo é AA ou AG uma vez que o mecanismo de ação do ácido valpróico não depende apenas dos canais de sódio, (24, 39) como de uma resposta menos adequada (40) ou até mesmo sem influência na resposta. (41, 42) Para a carbamazepina as conclusões também divergem entre polimorfismo ser responsável por aumentar a farmacorresistência, (36, 38, 43) e condicionar a necessidade de doses superiores (44-46) pelo facto do fármaco apresentar menor capacidade de inibição cortical.(47) É descrito um maior número de eventos adversos, nomeadamente toxicidade hepática,(48) e uma menor adesão terapêutica no genótipo AA. Sendo que, o genótipo AA conduz à necessidade de doses superiores e, talvez mais efeitos secundários.(49) Outro estudo afirma que a dosagem superior não se associa a maior frequência de efeitos secundários (45) e que não há impacto na farmacorresistência.(42, 50) No caso da fenitoína as conclusões apenas se parecem dividir entre o polimorfismo condicionar a necessidade de doses superiores (2, 46) e o não ter qualquer impacto na resposta.(51) O mesmo parece ocorrer para a lamotrigina que, ora é referida uma necessidade de doses superiores na presença do polimorfismo rs3812718 G>A (52) ora uma ausência de relação com resistência ao antiepilético.(53, 54)

Já a variante rs2298771 é responsável pela alteração da estrutura e função dos canais de sódio. O polimorfismo rs2298771 no caso do genótipo ser o GG ou o AG, surge como favorecedor da resistência à ação da carbamazepina mesmo quando a concentração se encontra em níveis terapêuticos (55) ou sem efeito no metabolismo e ação.(36) Para os outros antiepiléticos as conclusões também se dividem entre o referido polimorfismo estar associado a uma resistência aumentada (56) ou uma ausência de influência na resposta à terapêutica. (23, 57)

Na metanálise de Haerian BS, et al, não se objetivou associação entre os polimorfismos rs3812718, rs2298771 e a resposta à terapêutica. (58)

As diferentes conclusões entre estudos podem ocorrer por diversos fatores desde diferentes dimensões de amostra, diferentes critérios entre estudos para a caracterização da resistência à terapêutica por parte dos pacientes e ocorrência de interação entre os vários tipos de antiepiléticos utilizados no mesmo paciente. Para além disso, a maioria destes estudos incluem indivíduos com diversos tipos de epilepsia, o que por si altera a resposta à terapêutica. (58)

4.3. Prognóstico

A identificação de uma causa genética permite a obtenção mais precisa de um prognóstico. Todavia, não parece ser possível prever um prognóstico ou fenótipo baseado apenas na variante *SCN1A*. Diferenças fenotípicas foram encontradas mesmo em gêmeos monozigóticos. Em termos genéticos estas variações podem ser justificadas, quer pela influência de outras mutações quer pela existência de mosaicismo.(12)

Porém, algumas características podem orientar o estabelecimento do prognóstico, nomeadamente um início antes dos seis meses de idade, com crises focais e de duração superior a cinco minutos, fenótipo mais frequente no grupo com SD. A existência de história familiar e a presença de convulsões febris simples é mais comum no grupo sem SD.(46) O reconhecimento de uma causa genética permite ainda alertar para comorbilidades como os problemas da marcha associados à síndrome de Dravet.(59)

4.4. Quando e como pesquisar a mutação *SCN1A*

A pesquisa da mutação *SCN1A* deve ser equacionada quando temos uma criança previamente saudável, sem alterações imagiológicas na RM (60) que desenvolve convulsões febris e apiréticas, prolongadas e repetidas que se mostram resistentes ao tratamento durante o primeiro ano de vida, ou quando a utilização de fármacos bloqueadores dos canais de sódio agravam as convulsões. Em 50% dos doentes com início das convulsões antes dos seis meses e com história familiar foi encontrada causa genética. No entanto, a maior gravidade não parece indicar maior probabilidade de causa genética.(30) A etiologia genética deve também ser pesquisada nos casos em que após o início das convulsões se observam alterações do neurodesenvolvimento, (59) porém o ideal é que o diagnóstico seja feito antes destas surgirem. Isto é útil pois, se encontrarmos uma mutação, não existe a necessidade de progressão para estudos metabólicos, biópsias musculares ou avaliação dos neurotransmissores no líquido cerebrospinal. Para além disso, direciona a terapêutica no sentido da utilização de valproato, estiripentol, levetiracetam, e benzodiazepinas e na evicção de fármacos que podem potencialmente agravar as convulsões como é o caso da carbamazepina, fenitoina, oxcarbamazepina e gabapentina. Porém, um resultado positivo para a presença de uma mutação no gene *SCN1A* não significa obrigatoriamente SD, uma vez que mutações neste gene estão associadas a um largo espectro de fenótipos.(6)

A investigação da etiologia genética deve basear-se na utilização de painéis com múltiplos genes, uma vez que o fenótipo presente nos pacientes é de difícil distinção em termos clínicos de outras causas genéticas. Painéis de genes com mais de 100 genes

representam a abordagem mais custo-eficiente em crianças com epilepsia resistente à terapêutica, uma vez que este número de genes permite avaliar quer os genes comumente associados a epilepsia quer outros mais atípicos. Parrini E. et al mostrou que, ao alargar o painel de 30 para 95 genes aumentou o grau de diagnóstico em 25%. O uso destes painéis mais alargados é importante sobretudo em síndromes mal definidos cujo fenótipo não seja típico. (61) No painel devem ser aplicadas técnicas de sequenciação e de deteção do número de cópias. A sequenciação permite detetar deleções ou inserções assim como mutações *missense*, *nonsense* ou com alteração do local de *splicing*, mas não identifica deleções ou duplicações de todo um exão o que pode ser identificado por técnicas de deteção do número de cópias. (17)

5. Vacinação em Doentes com mutação *SCN1A*

Vários estudos têm referido um maior risco de convulsões febris após a vacinação contra o sarampo, parotidite e rubéola, assim como após a vacinação contra o tétano, difteria e tosse convulsa. Tendo, em alguns casos surgido a hipótese de que a vacinação condicione o desenvolvimento de encefalopatia epilética o que se traduz num aumento do receio por parte dos pais. Na verdade, a vacinação não constitui um fator de risco para a ocorrência de convulsões apiréticas subsequentes, desenvolvimento de epilepsia ou problemas neurológicos. (62)

Esta associação pode advir do facto de as convulsões febris relacionadas com a vacinação serem em cerca de 50% dos doentes com SD a forma inicial de apresentação da doença. (63) Verbeek NE, et al. concluiu que embora a SD, relacionado com a mutação *SCN1A*, seja uma síndrome rara é responsável por 1.2% das convulsões febris na sequência da vacinação.(62) Noutro estudo, de entre 15 crianças com convulsões relacionadas com a vacinação nove tinham mutações no gene *SCN1A*. Outro grupo estudado de entre 14 crianças com encefalopatia epilética pós-vacinação, 11 tinham SD causado por mutação no gene *SCN1A*.(64) Nestes indivíduos, como o limiar epileptógeno é inferior, as convulsões febris surgem para temperaturas corporais mais baixas. (64) Porém, há que ter em conta a sobreposição entre a idade típica em que surgem as primeiras crises na SD e a idade recomendada para a vacinação.(62)

Todavia, a ocorrência de convulsões febris relacionadas com a vacinação não parece afetar de forma significativa a evolução da SD, tanto que não se verifica uma diferença no prognóstico clínico e cognitivo entre doentes com e sem convulsões pós-vacinação.(65) É observado que a idade da primeira convulsão não relacionada com a vacinação e idade de início do declínio cognitivo são semelhantes entre indivíduos com e sem convulsões pós-vacinação. Apenas há a referir um início mais precoce do uso dos

antiepiléticos em crianças com convulsões febris o que pode mesmo ter um efeito protetor. (66)

Por não se verificar diferenças na evolução clínica pela ocorrência de convulsões relacionadas com a vacinação, não está recomendado adiar a vacinação nestes indivíduos, (67) até porque, provavelmente o dano resultante da infecção natural seria muito superior ao de uma convulsão relacionada com a vacinação.(66) Adicionalmente, num estudo foi demonstrada uma maior incidência de *status* epilético entre pacientes não vacinados.

Como existe uma proporção significativa de doentes com SD suscetíveis a desenvolver convulsões na sequência da vacinação, é importante que antes da vacinação as famílias sejam preparadas e educadas para esta eventualidade, podendo mesmo ser considerado o uso de medidas preventivas como antiepiléticos pré e pós-vacinação. (62) Também é defendido por alguns autores a toma de antipirético pré e até alguns dias após a vacinação de forma a reduzir o risco de ocorrência de convulsões.(67) Como se sabe ser a febre o fator desencadeante das convulsões o uso, sempre que possível, de vacinas inativadas deve ser considerado, uma vez que estas apresentam um menor potencial de provocar hipertermia.(66)

No caso clínico publicado por Deng et al é descrito o modo como a terapia profilática numa criança preveniu a ocorrência de consequências graves após a vacinação, contrariamente ao que ocorreu com o seu irmão, que faleceu devido a encefalopatia hipóxica-isquémica na sequência de estado de mal epilético após a vacinação. Também descreve que até aos seus dois anos, a criança se manteve sem convulsões. A sua mãe, portadora de mesma mutação, apresenta crises recorrentes. A mutação identificada foi *SCN1A* (NM_001165963.1: c.2866A > G; p. (Met956Val)). Esta menina, realizou paracetamol e clonazepam profiláticos aquando da vacinação dos seis,12 e 18 meses durante o período no qual seria expectável a ocorrência de febre pós-imunização. Está medicada também com valproato de sódio de forma a reduzir o risco de crises. No entanto, são necessários estudos que identifiquem se este resultado se deve realmente à profilaxia, pois alguns indivíduos portadores de determinadas variantes chegam a nunca apresentar sintomas. É, igualmente necessária uma avaliação de impacto dos efeitos secundários da terapêutica profilática utilizada de forma prolongada. Porém, este é um bom exemplo de como em casos potencialmente graves como este em que existe história familiar de fenótipos bastante graves, pode ser interessante o rastreio da mutação em outros indivíduos e ponderar o benefício do estabelecimento de uma terapia profilática.(68, 69) Noutro caso, um paciente com SD que apresentou convulsões pós vacinação e nas vacinas subsequentes realizou a toma de antipiréticos não apresentou mais convulsões associadas à vacinação.(70) Estes dois casos reforçam a necessidade de uma cuidada avaliação da

importância de estabelecer protocolos de preparação da vacinação destes indivíduos e em considerar a utilidade da profilaxia.

6. Mutações no gene *SCN1A* e tratamento cirúrgico

O benefício do tratamento cirúrgico em indivíduos com mutação do gene *SCN1A* parece controverso. Skjei KL, et al. avaliaram seis pacientes com estudo pré-operatório compatível com epilepsia de etiologia focal, porém com clínica compatível com SD, que após cirurgia de epilepsia com recessão cortical se mostrou serem portadores de mutações no gene *SCN1A*. Após a cirurgia apresentaram melhora do quadro, mas retomaram rapidamente o quadro de crises frequentes e farmacorresistentes. As avaliações histopatológicas dos espécimes cirúrgicos revelaram malformações moderadas ao nível do desenvolvimento cortical que, tendo em conta a presença da mutação *SCN1A*, se prevê serem difusas, justificando o insucesso da cirurgia. Também a RM, embora seja normal na maioria dos casos, pode por vezes evidenciar atrofia cerebral ou cerebelosa difusa, aumento de sinal da substância branca ou anomalias focais.(71) Outro estudo com pacientes com mutação no gene *SCN1A*, cinco em oito pacientes, apresentaram um bom resultado cirúrgico, mas não apresentavam clínica típica da SD. Quatro dos cinco doentes que obtiverem um bom resultado cirúrgico apresentavam esclerose mesial do hipocampo, já o doente com esclerose mesial do hipocampo e clínica típica da SD não apresentou um bom resultado cirúrgico, tendo ocorrido recorrência das convulsões. Assim sendo, é evidente que a esclerose mesial do hipocampo de forma isolada tem um excelente prognóstico cirúrgico. Porém, quando a esclerose mesial do hipocampo se associa e mutações do gene *SCN1A*, em especial se estas se traduzirem fenotipicamente na SD, os indivíduos podem não ter indicação cirúrgica tendo em conta mau prognóstico cirúrgico. (72)

Deste modo, antes de avançar para a cirurgia de epilepsia, deve ser equacionada a avaliação genética em pacientes com clínica compatível com SD, mesmo quando a avaliação pré-operatória possa indicar uma etiologia focal. Doentes com alterações focais e mutação *SCN1A* poderão ou não beneficiar de cirurgia. É importante uma cuidada avaliação do significado da variante que apresentam e a sua implicação no fenótipo e resultado cirúrgico.

7. Mutações no gene *SCN1A* e tratamento de precisão

A terapia génica pretende, por meio da introdução de material genético, seja ele DNA ou RNA em células alvo, restaurar as suas funções fisiológicas e desse modo corrigir os efeitos nefastos de determinadas mutações. Para a síndrome de Dravet várias abordagens em termos de terapia génica encontram-se em estudo como é o caso da utilização da

tecnologia *Targeted Aumentation of Nuclear Gene Output* (TANGO), da tecnologia Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interespaçadas (CRISPR) na sua forma desativada, dCas9, e da Terapia de Regulação de Gene Célula Seletiva (ETX101). (73)

Os *poison exons* são exões que contêm codões stop prematuros e a sua inclusão por *splicing* alternativo leva a uma paragem prematura da tradução e conseqüentemente proteínas incompletas e haploinsuficiência. A presença de *poison exons* é um mecanismo que já foi descrito em indivíduos com mutações do gene SCN1A. (74, 75)

Sendo assim, indivíduos com SD, resultante da presença de *poison exons*, são excelentes candidatos a utilização da tecnologia de Targeted Aumentation of Nuclear Gene Output (TANGO) que, pelo uso de oligonucleótidos *antisense* constituídos por sequências de número variável de oligonucleótidos que interagem com o pré-mRNA sendo capazes de alterar regiões de *splicing*.(76) Neste caso, o STK-001 ao bloquear a transcrição do *poison exon* 20N aumenta a quantidade de transcrito funcional produzido e leva a um aumento do canais Nav1.1 funcionantes. Um estudo em ratos mostrou uma redução da frequência das convulsões e um início mais tardio das mesmas. Atualmente, está a decorrer um ensaio clínico de fase 2, usando esta técnica em doentes com SD. Em relação a outras técnicas tentadas para corrigir a haploinsuficiência, como o uso do CRISPR dCas9, esta tecnologia tem a vantagem de não estar dependente do tamanho do gene que queremos modificar, também não parece induzir uma resposta imune e a sua aplicação pode ser feita por punção lombar como foi demonstrado na terapêutica da atrofia muscular espinhal. Tem como desvantagem necessitar de diversas administrações ao longo da vida do indivíduo cerca de duas a quatro vezes por ano. Contudo, muito ainda falta perceber nomeadamente se há e quais são as conseqüências a longo prazo, em que fase da vida do indivíduo é o momento ideal de administração, muito provavelmente a terapêutica atrás citada deverá ser administrada de forma bastante precoce preferencialmente antes do início do declínio cognitivo. É ainda necessária uma melhor compreensão se a utilização desta terapêutica terá impacto no desenvolvimento cognitivo.(76-78).

A tecnologia *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat* ou Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interespaçadas (CRISPR) na sua forma desativada dCas9 tem a capacidade de se fundir a regiões reguladoras da transcrição sendo, portanto capaz de favorecer a transcrição do gene correspondente ao promotor para o qual é direcionada. A tecnologia CRISPR dCas9 já foi utilizada para fomentar uma normalização dos níveis da proteína Nav1.1 quer em culturas celulares, quer em modelos animais.(79) Contudo, há que ter em conta que leva a um aumento da produção proteica a partir de ambos alelos, mutado e não mutado, pelo que a quantidade de

proteína não funcionante também aumenta. Como tal, em patologia resultante do ganho se função a referida abordagem poderá não ser a melhor, embora para os mecanismos atualmente conhecidos da SD pareça ter a sua utilidade.

A Terapia de Regulação de Gene Célula Seletiva (ETX101) é uma terapia que utiliza adenovírus como vetor para transportar um promotor da transcrição que favorece a expressão do gene *SCN1A*. Tem como vantagem o facto de ser pensado para apenas necessitar de uma administração. Porém, o facto de ter como vetor um adenovírus pode levar a que uma reação imunitária possa destruí-lo.(80)

Todas estas abordagens têm em comum só estarem indicadas naqueles em cuja mutação resulta em haploinsuficiência como no caso das mutações truncantes. Já no caso da presença de mutações *missense* existe o risco de conduzir a uma produção de proteína ou com efeitos nefastos, ou com efeito de dominância negativa.

Discussão e Conclusão

Variantes do gene *SCN1A* podem condicionar diversos fenótipos. Sabe-se que mutações truncantes dão tipicamente um fenótipo mais grave, enquanto que mutações *missense* condicionam normalmente um fenótipo mais ligeiro, mas nem sempre esta regra se verifica. Doentes portadores dos mesmos polimorfismos apresentam epilepsia com diferentes graus de gravidade entre si. São, portanto, necessários estudos com amostras de maiores dimensões, com maior diversidade étnica e uma uniformização das metodologias de análise.

A caracterização genética dos pacientes permite um diagnóstico mais precoce o que evita muitas das vezes a realização de exames adicionais e permite uma orientação e início precoce da terapêutica. A avaliação genética permite ainda uma melhor gestão terapêutica do paciente, na presença de mutações no gene *SCN1A* indica a necessidade da evicção de antiepiléticos bloqueadores dos canais de sódio. Para além disso, contribui para a introdução da terapêutica adequada de acordo com o diagnóstico. De realçar a utilização de estiripentol, dieta cetogénica, canabidiol ou fenfluramina nos doentes com SD. A resistência à terapêutica é um dos grandes problemas dos doentes com epilepsia, em especial daqueles com SD. Como se sabe que os fatores genéticos têm grande impacto na resposta à terapêutica, vários estudos procuraram avaliar o impacto dos polimorfismos rs2298771 e rs3812718 na resposta à terapêutica. Todavia, não existe ainda concordância acerca da influência destes polimorfismos sendo, portanto, fundamental a realização de mais estudos de forma a concluir qual o real papel dos polimorfismos rs2298771 e rs3812718 na resposta à terapêutica.

Tendo em conta as vantagens do diagnóstico genético seria importante a criação de normas de orientação para a testagem da presença de variantes do gene *SCN1A*. Devendo esta avaliação genética ser baseada na utilização de painéis com múltiplos genes, pois o uso de painéis com múltiplos genes mostrou ser o método mais eficiente

A presença de mutações no gene *SCN1A* merece especial atenção no momento da vacinação, uma vez que há um maior risco destes indivíduos desenvolverem convulsões relacionadas com a vacinação. É necessário estabelecer protocolos que orientem a preparação da vacinação de crianças com mutações no gene *SCN1A*. Para além disso, é de extrema importância a avaliação das vantagens e desvantagens da utilização de terapêutica profilática.

Na cirurgia de epilepsia deve ser pesquisada a presença da mutação do gene *SCN1A*. Em doentes que apresentem uma alteração focal e mutação do gene *SCN1A*, em

especial se esta mutação originar SD, a cirurgia não conduz a uma redução das crises epiléticas.

O conhecimento do gene alvo e da sua função tem contribuído para o desenvolvimento de terapias génicas. Para o tratamento da SD está a ser estudada a utilização da tecnologia TANGO, da tecnologia CRISPR dCas9 e a Terapia de gene célula seletiva, todas estas modalidades terapêuticas apenas se prevê serem úteis no tratamento de mutações relacionadas com haploinsuficiência do gene.

Sendo assim, alterações do gene *SCN1A* têm implicações no diagnóstico, no tipo de terapêutica a utilizar, na orientação dos indivíduos no momento da vacinação e na utilidade da cirurgia da epilepsia. Reforça-se, assim, a necessidade da realização de mais estudos sobre impacto das mutações e dos polimorfismos na resposta aos diversos antiepiléticos e sobre a utilidade e tipo de profilaxia no momento da vacinação.

Adenda

Mutação *missense*: é uma mutação que resulta da substituição de uma base nucleotídica por outra, pelo que o codão resultante codifica um aminoácido diferente.

Mutação *nonsense*: resulta de uma alteração pontual do DNA da qual resulta a codificação de um codão Stop, resultando na produção de uma proteína truncada por paragem prematura da tradução.

Codão terminal (codão *stop*): codão que não codifica nenhum aminoácido pelo que a sua presença constitui um sinal para que seja terminada naquele ponto a tradução do mRNA.

***Poison exons*:** são exões que contêm um codão terminal prematuro que quando incluídos no transcrito por mecanismos de *splicing* alternativo conduzem a uma paragem precoce na tradução.

Haploinsuficiência: decorre de um facto de um indivíduo heterozigótico para um determinado locus a codificação e produção de metade da quantidade de proteína não ser suficiente para manter um normal funcionamento.

Dominância negativa: a proteína produzida por um alelo mutado inativa em parte a proteína produzida pelo alelo normal para o mesmo *locus*, isto verifica-se quando as proteínas se organizam em oligómeros a fim de produzir moléculas funcionantes assim, ao invés de 50% de molécula funcionante teremos ainda uma menor quantidade.

Referências bibliográficas

1. Helbig I, Tayoun AA. Understanding Genotypes and Phenotypes in Epileptic Encephalopathies. *Mol Syndromol*. 2016;7(4):172-81.
2. Perucca P, Perucca E. Identifying mutations in epilepsy genes: Impact on treatment selection. *Epilepsy Res*. 2019;152:18-30.
3. Claes L, Del-Favero J, Ceulemans B, Lagae L, Van Broeckhoven C, De Jonghe P. De novo mutations in the sodium-channel gene SCN1A cause severe myoclonic epilepsy of infancy. *Am J Hum Genet*. 2001;68(6):1327-32.
4. McDonald CL, Saneto RP, Carmant L, Sotero de Menezes MA. Focal Seizures in Patients With SCN1A Mutations. *J Child Neurol*. 2017;32(2):170-6.
5. Meisler MH, Hill SF, Yu W. Sodium channelopathies in neurodevelopmental disorders. *Nat Rev Neurosci*. 2021;22(3):152-66.
6. Ferraro TN, Dlugos DJ, Buono RJ. Role of genetics in the diagnosis and treatment of epilepsy. *Expert Rev Neurother*. 2006;6(12):1789-800.
7. Cardenal-Muñoz E, Auvin S, Villanueva V, Cross JH, Zuberi SM, Lagae L, et al. Guidance on Dravet syndrome from infant to adult care: Road map for treatment planning in Europe. *Epilepsia Open*. 2021.
8. Villanueva V, Carreño-Martínez M, Gil Nagel-Rein A, López-González FJ. New therapeutic approach in Dravet syndrome and Lennox-Gastaut syndrome with cannabidiol. *Rev Neurol*. 2021;72(S01):S1-s10.
9. Scheffer IE, Nabbout R. SCN1A-related phenotypes: Epilepsy and beyond. *Epilepsia*. 2019;60 Suppl 3:S17-s24.
10. Herini ES, Gunadi, Harahap IS, Yusoff S, Morikawa S, Patria SY, et al. Generalized epilepsy with febrile seizures plus (GEFS+) spectrum: clinical manifestations and SCN1A mutations in Indonesian patients. *Epilepsy Res*. 2010;90(1-2):132-9.
11. Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, Connolly MB, French J, Guilhoto L, et al. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2017;58(4):512-21.
12. Higurashi N, Broccoli V, Hirose S. Genetics and gene therapy in Dravet syndrome. *Epilepsy Behav*. 2021:108043.
13. Kluckova D, Kolnikova M, Lacinova L, Jurkovicova-Tarabova B, Foltan T, Demko V, et al. A Study among the Genotype, Functional Alternations, and Phenotype of 9 SCN1A Mutations in Epilepsy Patients. *Sci Rep*. 2020;10(1):10288.
14. Dhiman V. Molecular Genetics of Epilepsy: A Clinician's Perspective. *Ann Indian Acad Neurol*. 2017;20(2):96-102.
15. Gataullina S, Dulac O. From genotype to phenotype in Dravet disease. *Seizure*. 2017;44:58-64.
16. Mei D, Cetica V, Marini C, Guerrini R. Dravet syndrome as part of the clinical and genetic spectrum of sodium channel epilepsies and encephalopathies. *Epilepsia*. 2019;60 Suppl 3:S2-s7.
17. Miller IO, Sotero de Menezes MA. SCN1A Seizure Disorders. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Mirzaa G, et al., editors. *GeneReviews*(®). Seattle (WA): University of Washington, Seattle

Copyright © 1993-2021, University of Washington, Seattle. GeneReviews is a registered trademark of the University of Washington, Seattle. All rights reserved.; 1993.

18. Ishii A, Watkins JC, Chen D, Hirose S, Hammer MF. Clinical implications of SCN1A missense and truncation variants in a large Japanese cohort with Dravet syndrome. *Epilepsia*. 2017;58(2):282-90.
19. Gertler TS, Calhoun J, Laux L. A single-center, retrospective analysis of genotype-phenotype correlations in children with Dravet syndrome. *Seizure*. 2020;75:1-6.
20. Beck VC, Hull JM, Isom LL. Beyond Dravet Syndrome: Characterization of a Novel, More Severe SCN1A-Linked Epileptic Encephalopathy. *Epilepsy Curr*. 2019;19(4):266-8.
21. Hao J, Liu H, Ma J, Liu G, Dong G, Liu P, et al. SCN1A IVS5N+5 G>A Polymorphism and Risk of Febrile Seizure and Epilepsy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Neurol*. 2020;11:581539.
22. Bertok S, Dolžan V, Goričar K, Podkrajšek KT, Battelino T, Renner-Primec Z. The association of SCN1A p.Thr1067Ala polymorphism with epilepsy risk and the response to antiepileptic drugs in Slovenian children and adolescents with epilepsy. *Seizure*. 2017;51:9-13.
23. Lakhan R, Kumari R, Misra UK, Kalita J, Pradhan S, Mittal B. Differential role of sodium channels SCN1A and SCN2A gene polymorphisms with epilepsy and multiple drug resistance in the north Indian population. *Br J Clin Pharmacol*. 2009;68(2):214-20.
24. Ademuwagun IA, Rotimi SO, Syrbe S, Ajamma YU, Adebisi E. Voltage Gated Sodium Channel Genes in Epilepsy: Mutations, Functional Studies, and Treatment Dimensions. *Front Neurol*. 2021;12:600050.
25. Zou D, Wang L, Liao J, Xiao H, Duan J, Zhang T, et al. Genome sequencing of 320 Chinese children with epilepsy: a clinical and molecular study. *Brain*. 2021.
26. de Lange IM, Gunning B, Sonsma ACM, van Gemert L, van Kempen M, Verbeek NE, et al. Influence of contraindicated medication use on cognitive outcome in Dravet syndrome and age at first afebrile seizure as a clinical predictor in SCN1A-related seizure phenotypes. *Epilepsia*. 2018;59(6):1154-65.
27. Oates S, Tang S, Rosch R, Lear R, Hughes EF, Williams RE, et al. Incorporating epilepsy genetics into clinical practice: a 360° evaluation. *NPJ Genom Med*. 2018;3:13.
28. Zhang X, Liu J, Ye J. Association between SCN1A polymorphism and carbamazepine responsiveness in epilepsy: A meta-analysis. *Epilepsy Res*. 176. Netherlands: © 2021 Elsevier B.V; 2021. p. 106627.
29. Atli EI, Atli E, Yalcintepe S, Demir S, Kalkan R, Eker D, et al. Customized Targeted Massively Parallel Sequencing Enables More Precisely Diagnosis of Patients with Epilepsy. *Intern Med J*. 2021.
30. Lee J, Lee C, Ki CS. Determining the best candidates for next-generation sequencing-based gene panel for evaluation of early-onset epilepsy. *Mol Genet Genomic Med*. 2020;8(9):e1376.
31. Cross JH, Caraballo RH, Nabbout R, Vigevano F, Guerrini R, Lagae L. Dravet syndrome: Treatment options and management of prolonged seizures. *Epilepsia*. 2019;60 Suppl 3:S39-s48.
32. Kwan P, Arzimanoglou A, Berg AT, Brodie MJ, Allen Hauser W, Mathern G, et al. Definition of drug resistant epilepsy: consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia*. 2010;51(6):1069-77.
33. Margari L, Legrottaglie AR, Vincenti A, Coppola G, Operto FF, Buttiglione M, et al. Association between SCN1A gene polymorphisms and drug resistant epilepsy in pediatric patients. *Seizure*. 2018;55:30-5.
34. Sisodiya SM, Marini C. Genetics of antiepileptic drug resistance. *Curr Opin Neurol*. 2009;22(2):150-6.
35. French JA. Refractory epilepsy: clinical overview. *Epilepsia*. 2007;48 Suppl 1:3-7.

36. Zhao GX, Zhang Z, Cai WK, Shen ML, Wang P, He GH. Associations between CYP3A4, CYP3A5 and SCN1A polymorphisms and carbamazepine metabolism in epilepsy: A meta-analysis. *Epilepsy Res.* 2021;173:106615.
37. Yip TS, O'Doherty C, Tan NC, Dibbens LM, Suppiah V. SCN1A variations and response to multiple antiepileptic drugs. *Pharmacogenomics J.* 2014;14(4):385-9.
38. Abe T, Seo T, Ishitsu T, Nakagawa T, Hori M, Nakagawa K. Association between SCN1A polymorphism and carbamazepine-resistant epilepsy. *Br J Clin Pharmacol.* 2008;66(2):304-7.
39. Shi L, Zhu M, Li H, Wen Z, Chen X, Luo J, et al. SCN1A and SCN2A polymorphisms are associated with response to valproic acid in Chinese epilepsy patients. *Eur J Clin Pharmacol.* 2019;75(5):655-63.
40. Nakashima H, Oniki K, Nishimura M, Ogusu N, Shimomasuda M, Ono T, et al. Determination of the Optimal Concentration of Valproic Acid in Patients with Epilepsy: A Population Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Analysis. *PLoS One.* 2015;10(10):e0141266.
41. Haerian BS, Baum L, Tan HJ, Kwan P, Raymond AA, Saruwatari J, et al. SCN1A IVS5N+5 polymorphism and response to sodium valproate: a multicenter study. *Pharmacogenomics.* 2012;13(13):1477-85.
42. Zimprich F, Stogmann E, Bonelli S, Baumgartner C, Mueller JC, Meitinger T, et al. A functional polymorphism in the SCN1A gene is not associated with carbamazepine dosages in Austrian patients with epilepsy. *Epilepsia.* 49. United States 2008. p. 1108-9.
43. Ma CL, Wu XY, Zheng J, Wu ZY, Hong Z, Zhong MK. Association of SCN1A, SCN2A and ABCC2 gene polymorphisms with the response to antiepileptic drugs in Chinese Han patients with epilepsy. *Pharmacogenomics.* 2014;15(10):1323-36.
44. Fricke-Galindo I, Ortega-Vázquez A, Monroy-Jaramillo N, Dorado P, Jung-Cook H, Peñas-Lledó E, et al. Allele and genotype frequencies of genes relevant to anti-epileptic drug therapy in Mexican-Mestizo healthy volunteers. *Pharmacogenomics.* 2016;17(17):1913-30.
45. Tate SK, Depondt C, Sisodiya SM, Cavalleri GL, Schorge S, Soranzo N, et al. Genetic predictors of the maximum doses patients receive during clinical use of the anti-epileptic drugs carbamazepine and phenytoin. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(15):5507-12.
46. Cetica V, Chiari S, Mei D, Parrini E, Grisotto L, Marini C, et al. Clinical and genetic factors predicting Dravet syndrome in infants with SCN1A mutations. *Neurology.* 2017;88(11):1037-44.
47. Menzler K, Hermsen A, Balkenhol K, Duddek C, Bugiel H, Bauer S, et al. A common SCN1A splice-site polymorphism modifies the effect of carbamazepine on cortical excitability--a pharmacogenetic transcranial magnetic stimulation study. *Epilepsia.* 2014;55(2):362-9.
48. Wang ZJ, Chen J, Chen HL, Zhang LY, Xu D, Jiang WT. Association between SCN1A polymorphism rs3812718 and valproic acid resistance in epilepsy children: a case-control study and meta-analysis. *Biosci Rep.* 2018;38(6).
49. Zhou BT, Zhou QH, Yin JY, Li GL, Xu XJ, Qu J, et al. Comprehensive analysis of the association of SCN1A gene polymorphisms with the retention rate of carbamazepine following monotherapy for new-onset focal seizures in the Chinese Han population. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2012;39(4):379-84.
50. Yun W, Zhang F, Hu C, Luo X, Xue P, Wang J, et al. Effects of EPHX1, SCN1A and CYP3A4 genetic polymorphisms on plasma carbamazepine concentrations and pharmacoresistance in Chinese patients with epilepsy. *Epilepsy Res.* 2013;107(3):231-7.
51. Calderon-Ospina CA, Galvez JM, López-Cabra C, Morales N, Restrepo CM, Rodríguez J, et al. Possible Genetic Determinants of Response to Phenytoin in a Group of Colombian Patients With Epilepsy. *Front Pharmacol.* 2020;11:555.

52. Markovic I, Pejanovic-Skobic N, Bozina N, Susak Sporis I, Sporis D, Basic S. The lack of influence of IVS5-91 G>A polymorphism of the SCN1A gene on efficacy of lamotrigine in patients with focal epilepsy. *Neurol Res.* 2019;41(10):930-5.
53. Kwan P, Poon WS, Ng HK, Kang DE, Wong V, Ng PW, et al. Multidrug resistance in epilepsy and polymorphisms in the voltage-gated sodium channel genes SCN1A, SCN2A, and SCN3A: correlation among phenotype, genotype, and mRNA expression. *Pharmacogenet Genomics.* 2008;18(11):989-98.
54. Kumari R, Lakhan R, Kumar S, Garg RK, Misra UK, Kalita J, et al. SCN1AIVS5-91G>A polymorphism is associated with susceptibility to epilepsy but not with drug responsiveness. *Biochimie.* 2013;95(6):1350-3.
55. Nazish HR, Ali N, Ullah S. The possible effect of SCN1A and SCN2A genetic variants on carbamazepine response among Khyber Pakhtunkhwa epileptic patients, Pakistan. *Ther Clin Risk Manag.* 2018;14:2305-13.
56. Abo El Ftooh WM, Abd El Naby SA, Habib MS, AA AL, Kasemy ZA. The potential implication of SCN1A and CYP3A5 genetic variants on antiepileptic drug resistance among Egyptian epileptic children. *Seizure.* 2016;41:75-80.
57. Kumari R, Lakhan R, Garg RK, Kalita J, Misra UK, Mittal B. Pharmacogenomic association study on the role of drug metabolizing, drug transporters and drug target gene polymorphisms in drug-resistant epilepsy in a north Indian population. *Indian J Hum Genet.* 2011;17 Suppl 1(Suppl 1):S32-40.
58. Haerian BS, Baum L, Kwan P, Tan HJ, Raymond AA, Mohamed Z. SCN1A, SCN2A and SCN3A gene polymorphisms and responsiveness to antiepileptic drugs: a multicenter cohort study and meta-analysis. *Pharmacogenomics.* 2013;14(10):1153-66.
59. Symonds JD, McTague A. Epilepsy and developmental disorders: Next generation sequencing in the clinic. *Eur J Paediatr Neurol.* 2020;24:15-23.
60. Jukkarwala A, Menon RN, Sunesh ER, Radhakrishnan A. Electroclinical Phenotype-Genotype Homogeneity in Drug-Resistant "Generalized" Tonic-Clonic Seizures of Early Childhood. *Clin EEG Neurosci.* 2020:1550059420953735.
61. Parrini E, Marini C, Mei D, Galuppi A, Cellini E, Pucatti D, et al. Diagnostic Targeted Resequencing in 349 Patients with Drug-Resistant Pediatric Epilepsies Identifies Causative Mutations in 30 Different Genes. *Hum Mutat.* 2017;38(2):216-25.
62. Verbeek NE, van der Maas NA, Jansen FE, van Kempen MJ, Lindhout D, Brilstra EH. Prevalence of SCN1A-related dravet syndrome among children reported with seizures following vaccination: a population-based ten-year cohort study. *PLoS One.* 2013;8(6):e65758.
63. Zamponi N, Passamonti C, Petrelli C, Veggiotti P, Baldassari C, Verrotti A, et al. Vaccination and occurrence of seizures in SCN1A mutation-positive patients: a multicenter Italian study. *Pediatr Neurol.* 2014;50(3):228-32.
64. Verbeek NE, Jansen FE, Vermeer-de Bondt PE, de Kovel CG, van Kempen MJ, Lindhout D, et al. Etiologies for seizures around the time of vaccination. *Pediatrics.* 2014;134(4):658-66.
65. Wong PT, Wong VC. Prevalence and Characteristics of Vaccination Triggered Seizures in Dravet Syndrome in Hong Kong: A Retrospective Study. *Pediatr Neurol.* 2016;58:41-7.
66. Verbeek NE, van der Maas NA, Sonsma AC, Ippel E, Vermeer-de Bondt PE, Hagebeuk E, et al. Effect of vaccinations on seizure risk and disease course in Dravet syndrome. *Neurology.* 2015;85(7):596-603.
67. Wheless JW, Fulton SP, Mudigoudar BD. Dravet Syndrome: A Review of Current Management. *Pediatr Neurol.* 2020;107:28-40.

68. Deng L, Ma A, Wood N, Ardern-Holmes S. Vaccination management in an asymptomatic child with a novel SCN1A variant and family history of status epilepticus following vaccination: A case report on a potential new direction in personalised medicine. *Seizure*. 2020;78:49-52.
69. Shafrir Y. Response to: Deng L, Ma A, Wood N, Ardern-Holmes S. Vaccination management in an asymptomatic child with a novel SCN1A variant and family history of status epilepticus following vaccination: A case report on a potential new direction in personalised medicine. *Seizure*. 2020;78:49-52. *Seizure*. 2020;80:226.
70. Tro-Baumann B, von Spiczak S, Lotte J, Bast T, Haberlandt E, Sassen R, et al. A retrospective study of the relation between vaccination and occurrence of seizures in Dravet syndrome. *Epilepsia*. 2011;52(1):175-8.
71. Skjei KL, Church EW, Harding BN, Santi M, Holland-Bouley KD, Clancy RR, et al. Clinical and histopathological outcomes in patients with SCN1A mutations undergoing surgery for epilepsy. *J Neurosurg Pediatr*. 2015;16(6):668-74.
72. Vezyroglou A, Varadkar S, Bast T, Hirsch E, Strobl K, Harvey AS, et al. Focal epilepsy in SCN1A-mutation carrying patients: is there a role for epilepsy surgery? *Dev Med Child Neurol*. 2020;62(11):1331-5.
73. Turner TJ, Zourray C, Schorge S, Lignani G. Recent advances in gene therapy for neurodevelopmental disorders with epilepsy. *J Neurochem*. 2021;157(2):229-62.
74. Aziz MC, Schneider PN, Carvill GL. Targeting Poison Exons to Treat Developmental and Epileptic Encephalopathy. *Dev Neurosci*. 2021:1-6.
75. Carvill GL, Engel KL, Ramamurthy A, Cochran JN, Roovers J, Stamberger H, et al. Aberrant Inclusion of a Poison Exon Causes Dravet Syndrome and Related SCN1A-Associated Genetic Epilepsies. *Am J Hum Genet*. 2018;103(6):1022-9.
76. Hill SF, Meisler MH. Antisense Oligonucleotide Therapy for Neurodevelopmental Disorders. *Dev Neurosci*. 2021;43(3-4):247-52.
77. Han Z, Chen C, Christiansen A, Ji S, Lin Q, Anumonwo C, et al. Antisense oligonucleotides increase Scn1a expression and reduce seizures and SUDEP incidence in a mouse model of Dravet syndrome. *Sci Transl Med*. 2020;12(558).
78. Wagnon JL. TANGO With SCN1A: Can This Molecular Dance Defeat Dravet Syndrome? *Epilepsy Curr*. 2021;21(1):60-1.
79. Colasante G, Lignani G, Brusco S, Di Bernardino C, Carpenter J, Giannelli S, et al. dCas9-Based Scn1a Gene Activation Restores Inhibitory Interneuron Excitability and Attenuates Seizures in Dravet Syndrome Mice. *Mol Ther*. 2020;28(1):235-53.
80. Isom LL, Knupp KG. Dravet Syndrome: Novel Approaches for the Most Common Genetic Epilepsy. *Neurotherapeutics*. 2021.