ANÁLISE ESTRUTURAL *IN SILICO* DA VARIANTE p.Ala1323Pro DO GENE SCN8A E SEU IMPACTO NO CANAL DE SÓDIO Nav1.6

Cristiane Tavares Rabelo de Castro[1]
Douglas Alexsander Alves[2]

RESUMO

O gene SCN8A, localizado no cromossomo 12q13.13, codifica o canal de sódio dependente de voltagem Nav1.6, fundamental para a geração e propagação do potencial de ação neuronal. Variantes missense patogênicas nesse gene estão associadas a um amplo espectro de epilepsias genéticas, incluindo encefalopatias epilépticas do desenvolvimento e epilepsias refratárias de início precoce. Este estudo teve como objetivo analisar, por meio de abordagem *in silico*, o impacto estrutural da variante c.3967G>C (p.Ala1323Pro) no canal Nav1.6, bem como mapear regiões estruturalmente vulneráveis a mutações missense patogênicas. Foi realizada curadoria de 108 variantes missense patogênicas descritas no ClinVar e na literatura científica, seguida de alinhamento múltiplo de sequências (Clustal Omega), modelagem estrutural tridimensional (Swiss-Model) e análise visual no PyMOL. A variante p.Ala1323Pro localiza-se em resíduo altamente conservado, inserido em região crítica do domínio DIII, próximo ao loop S5–S6, responsável pela formação do poro do canal. As análises estruturais sugerem distorções locais na conformação helicoidal, com potencial redução CNN da estabilidade estrutural e comprometimento da condutância iônica. Observou-se ainda concentração de variantes patogênicas nos domínios DIII e DIV, especialmente nos segmentos S4 e S5–S6, indicando zonas de vulnerabilidade funcional do Nav1.6. Conclui-se que a variante p.Ala1323Pro apresenta plausível impacto estrutural e funcional, reforçando a utilidade de análises *in silico* na interpretação de variantes genéticas associadas à epilepsia.

Palavras-chave: SCN8A; Nav1.6; epilepsia genética; variantes missense; modelagem estrutural.

[1] Cristiane Tavares Rabelo de Castro - Acadêmico do curso de medicina do Centro Universitário Atenas.
[2] Prof. Dr. Douglas Alexsander Alves - Professor orientador do Cento Universitário Atenas.

ABSTRACT

The SCN8A gene, located on chromosome 12q13.13, encodes the voltage-gated sodium channel Nav1.6, which plays a crucial role in neuronal excitability and action potential propagation. Pathogenic missense variants in SCN8A are associated with a wide spectrum of genetic epilepsies, including developmental and epileptic encephalopathies and early-onset refractory epilepsy. This study aimed to analyze, through an *in silico* approach, the structural impact of the c.3967G>C (p.Ala1323Pro) variant on the Nav1.6 channel and to identify structurally vulnerable regions to pathogenic missense mutations. A total of 108 pathogenic missense variants were curated from ClinVar and scientific literature, followed by multiple sequence alignment (Clustal Omega), three-dimensional structural modeling (Swiss-Model), and molecular visualization using PyMOL. The p.Ala1323Pro variant affects a highly conserved residue located in a critical region of domain DIII, near the S5–S6 loop that forms the channel pore. Structural analyses suggest local helical distortions, potentially leading to reduced structural stability and impaired ion conductance. Additionally, a higher density of pathogenic variants was observed in domains DIII and DIV, particularly in S4 segments and S5–S6 loops, indicating functional vulnerability zones of Nav1.6. These findings support the relevance of *in silico* structural analyses for variant interpretation in SCN8A-related epilepsies.

Keywords: SCN8A; Nav1.6; genetic epilepsy; missense variants; structural modeling.

INTRODUÇÃO

O gene SCN8A codifica o canal de sódio dependente de voltagem Nav1.6, amplamente expresso no sistema nervoso central, com destaque para os nós de Ranvier e o segmento inicial do axônio. Esse canal exerce papel fundamental na iniciação e propagação do potencial de ação neuronal, sendo crucial para a excitabilidade neuronal fisiológica e a transmissão adequada dos impulsos elétricos no cérebro (WAGNON; MEISLER, 2015; LIU et al., 2023).

Alterações estruturais ou funcionais no Nav1.6 podem gerar desequilíbrios na homeostase elétrica cerebral, favorecendo a ocorrência de crises epilépticas. Nas últimas décadas, variantes patogênicas no SCN8A têm sido reconhecidas como causas relevantes de epilepsias genéticas, abrangendo um amplo espectro clínico que varia desde epilepsias autolimitadas até encefalopatias epilépticas do desenvolvimento, frequentemente associadas a atraso neuropsicomotor, déficits cognitivos e epilepsia de difícil controle (BERCOVIC et al., 2016; JOHANNESEN et al., 2019; BRUNKLAUS; LAL, 2020).

Entre os diferentes tipos de variantes descritas, as mutações missense apresentam particular relevância clínica e molecular, uma vez que podem alterar propriedades específicas do canal, como ativação, inativação e condutância iônica, resultando em fenótipos associados tanto ao ganho quanto à perda de função do canal de sódio (MEISLER, 2019; PATEL et al., 2022). Estudos prévios demonstram que variantes localizadas em regiões críticas do canal, como os segmentos S4 e os loops S5–S6, estão frequentemente associadas a quadros epilépticos mais graves (JOHANNESEN et al., 2019; LIU et al., 2023).

Apesar do avanço das tecnologias de sequenciamento de nova geração e da ampliação do diagnóstico molecular das epilepsias, a interpretação do impacto funcional de variantes raras permanece um desafio clínico significativo (MARINI et al., [s.d.]). Nesse contexto, abordagens *in silico*, baseadas em conservação evolutiva, alinhamento de sequências e modelagem estrutural tridimensional, têm se mostrado ferramentas valiosas para inferir os possíveis efeitos moleculares das mutações e auxiliar na classificação de patogenicidade conforme critérios da ACMG (KEARNEY et al., 2016; SWISS-MODEL, 2018).

Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo investigar, por meio de análise estrutural *in silico*, o impacto da variante p.Ala1323Pro no canal Nav1.6, bem como identificar padrões estruturais associados à patogenicidade de variantes missense no gene SCN8A, contribuindo para a compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos nas epilepsias relacionadas a esse gene.

METODOLOGIA

Trata-se de um estudo de caráter exploratório e descritivo, baseado em análise *in silico*. A sequência de referência do gene SCN8A (NM_014191.4 / NP_055006.1) foi utilizada como base para todas as análises. A variante âncora analisada foi c.3967G>C (p.Ala1323Pro).

Foi realizada curadoria manual de 108 variantes missense patogênicas descritas na base de dados ClinVar e em artigos científicos especializados. Para avaliação da conservação evolutiva dos resíduos afetados, realizou-se alinhamento múltiplo de sequências utilizando o software Clustal Omega, incluindo diferentes espécies.

A modelagem estrutural tridimensional do canal Nav1.6 foi realizada por meio da plataforma Swiss-Model, com posterior visualização, sobreposição estrutural e marcação dos resíduos mutados no software PyMOL. A interpretação do potencial impacto funcional das variantes seguiu critérios da ACMG, incluindo evidências computacionais e de conservação (PM2, PP2 e PP3).

DESENVOLVIMENTO

Estrutura e função do canal Nav1.6

O canal de sódio dependente de voltagem Nav1.6 é composto por quatro domínios homólogos (DI–DIV), cada um contendo seis segmentos transmembranares (S1–S6). Os segmentos S4 atuam como sensores de voltagem, enquanto os loops S5–S6 são responsáveis pela formação do poro iônico e pela seletividade ao íon sódio. Essas regiões são fundamentais para a iniciação e propagação do potencial de ação neuronal, especialmente nos segmentos iniciais do axônio e nos nós de Ranvier (WAGNON; MEISLER, 2015; LIU et al., 2023).

Alterações estruturais nessas regiões podem comprometer os mecanismos de ativação, inativação e condutância do canal, resultando em hiperexcitabilidade neuronal ou falha na transmissão elétrica, fenômenos diretamente associados à fisiopatologia das epilepsias genéticas relacionadas ao SCN8A (MEISLER, 2019; BRUNKLAUS; LAL, 2020).

Distribuição das variantes missense patogênicas

A análise das 108 variantes missense patogênicas curadas a partir do ClinVar e da literatura científica revelou maior concentração de mutações nos domínios DIII e DIV do canal Nav1.6, especialmente nos segmentos S4 e nos loops S5–S6. Estudos prévios demonstram que essas regiões apresentam elevada sensibilidade funcional, estando frequentemente associadas a fenótipos epilépticos mais graves, incluindo encefalopatias epilépticas do desenvolvimento (JOHANNESEN et al., 2019; PATEL et al., 2022).

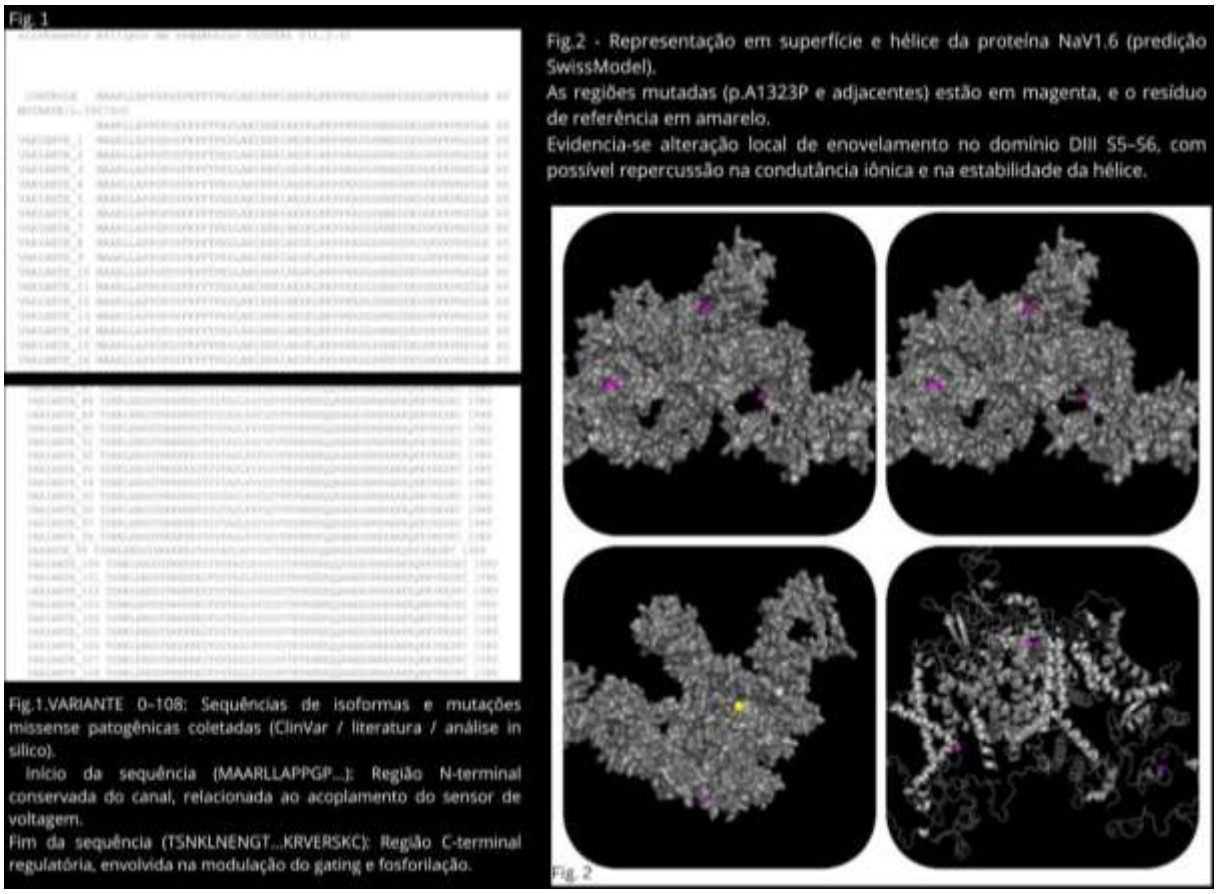
Essa distribuição reforça a hipótese de que os domínios DIII e DIV constituem zonas críticas de vulnerabilidade estrutural, nas quais pequenas alterações conformacionais podem resultar em impacto funcional significativo, seja por ganho ou perda de função do canal (BERCOVIC et al., 2016; MEISLER, 2019).

Impacto estrutural da variante p.Ala1323Pro

A variante p.Ala1323Pro localiza-se em um resíduo altamente conservado do domínio DIII, próximo ao loop S5–S6, região diretamente envolvida na formação do poro do canal. A substituição de alanina por prolina é particularmente relevante do ponto de vista estrutural, uma vez que a prolina é conhecida por induzir quebras em hélices alfa, alterando a estabilidade e a continuidade da estrutura secundária da proteína (LIU et al., 2023).

A sobreposição dos modelos estruturais tridimensionais evidenciou distorções conformacionais locais que podem comprometer a estabilidade do poro iônico e reduzir a eficiência da condutância de sódio. Esses achados são compatíveis com mecanismos de perda de função descritos em outras variantes patogênicas do SCN8A localizadas em regiões homólogas (WAGNON; MEISLER, 2015; JOHANNESEN et al., 2019).

Assim, a análise *in silico* sugere que a variante p.Ala1323Pro apresenta potencial impacto estrutural e funcional relevante, corroborando sua associação com fenótipos epilépticos e reforçando a utilidade da modelagem estrutural como ferramenta auxiliar na interpretação de variantes genéticas raras (SWISS-MODEL, 2018; SCHRÖDINGER, 2023).



Fonte: Elaborado pela autora, 2025

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste estudo indicam que a variante p.Ala1323Pro apresenta potencial impacto estrutural relevante no canal Nav1.6, afetando uma região crítica para a condutância iônica e o funcionamento adequado do canal. A concentração de variantes patogênicas nos domínios DIII e DIV reforça a importância dessas regiões como determinantes funcionais do SCN8A.

Embora se trate de uma análise *in silico*, os achados contribuem para a compreensão dos mecanismos moleculares associados às epilepsias relacionadas ao SCN8A e podem auxiliar na interpretação clínica de variantes raras. Estudos funcionais futuros são necessários para confirmar os efeitos observados e aprofundar a correlação genótipo-fenótipo.

REFERÊNCIAS

BEGHINI, D. G.; KASAI-BRUNSWICK, T. H.; HENRIQUES-PONS, A. **Induced pluripotent stem cells in drug discovery and neurodegenerative disease modelling.** International Journal of Molecular Sciences, v. 25, n. 4, p. 2392, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.3390/ijms25042392. Acesso em: abr. 2025.

BERCOVIC, S. F. et al. **SCN8A encephalopathy: a major cause of epilepsy of infancy**. Epilepsia, v. 57, n. 1, p. 1–9, 2016.

BERCOVIC, S. F. et al. **Genetic testing in epilepsy: the role of SCN8A**. Nature Reviews Neurology, v. 16, n. 6, p. 335–346, 2020.

BOROWICZ-REUTT, K. **Anticonvulsant therapy in SCN8A-related epilepsy: a review of current strategies.** Journal of Epilepsy Research, v. 13, n. 2, p. 45–58, 2023.

BRUNKLAUS, A.; LAL, D. **Sodium channel epilepsies and neurodevelopmental disorders: from disease mechanisms to clinical application.** Developmental Medicine & Child Neurology, v. 62, n. 7, p. 784–792, 2020. DOI: 10.1111/dmcn.14519.

DEVINSKY, O. et al. **Cannabidiol in patients with treatment-resistant epilepsy: a randomized, controlled trial**. The Lancet Neurology, v. 20, n. 3, p. 195–206, 2021.

DHINDRA, R. S.; LOWENSTEIN, D. H.; GOLDSTEIN, D. B. **Molecular architecture and neurobiology of the epilepsies.** In: LEHNER, T.; MILLER, B. L.; STATE, M. W. (ed.). Genomics, circuits, and pathways in clinical neuropsychiatry. [S.l.]: [s.n.], [s.d.]. cap. 37.

JOHANNESEN, K. M. et al. **Phenotypic spectrum of SCN8A encephalopathy and genotype–phenotype correlation.** Epilepsia, 2019.

KEARNEY, J. A. et al. **Genetic modulation of epilepsy**. Nature Reviews Neuroscience, v. 17, n. 3, p. 1–13, 2016.

KEARNEY, J. A. et al. **Mutations in the sodium channel gene SCN8A are associated with a spectrum of epileptic disorders.** Nature Genetics, [s.d.].

LIU, Y. et al. **Structural basis of Nav channel gating and pharmacology.** Science, 2023.
MARINI, C. et al. **Next-generation sequencing in the diagnosis of epilepsy.** Nature Reviews Neurology, [s.d.].

MCCARTHY, M. I. et al. **Genome-wide association studies for complex traits: consensus, uncertainty and challenges.** Nature Reviews Genetics, v. 15, n. 10, p. 655–670, 2014.

MEISLER, M. H. **SCN8A encephalopathy: mechanisms and models.** Epilepsia, 2019.

PATEL, R. R. et al. **SCN8A variants in pediatric epilepsy: therapeutic outcomes and genotype–phenotype correlations.** Epilepsia, 2022.

SCHRÖDINGER, LLC. **PyMOL molecular graphics system.** Versão 2.5. New York, 2023.

SWISS-MODEL. **Homology modelling of protein structures and complexes**. Bioinformatics, 2018.

WAGNON, J. L.; MEISLER, M. H. **The role of sodium channel SCN8A in human epilepsy and other neurological disorders**. Journal of Physiology, 2015.