

# Identificación de nuevos genes implicados en la epileptogénesis

## Objetivo del proyecto

El proyecto pretende la Identificación de nuevos genes implicados en la epileptogénesis, con un enfoque traslacional partiendo de un modelo experimental de epilepsia. Busca identificar y validar genes implicados en la epilepsia mediante un enfoque multidisciplinar. Para ello, se secuencia el exoma completo del modelo experimental de epilepsia audiogénica de origen genético propio de la Universidad de Salamanca, el hámster GASH/Sal (acrónimo de: genetic audiogenic seizures hamster, Salamanca). Este modelo es altamente relevante por sus similitudes electrofisiológicas, moleculares y farmacológicas con la epilepsia humana. Los genes identificados se validan mediante herramientas bioinformáticas para predecir el impacto de sus mutaciones en la función proteica y en las redes metabólicas. Posteriormente, se analizará su expresión en tejidos epileptogénicos humanos mediante RT-qPCR e inmunohistoquímica. Finalmente, los resultados obtenidos en el modelo GASH/Sal se comparan con los de pacientes con epilepsia para mejorar los paneles de diagnóstico y la predicción de manifestaciones clínicas.

## Participantes del proyecto

Universidad de Salamanca, [www.usal.es/](http://www.usal.es/)

Conserjería de Educación, Junta de Castilla y León, [www.educa.jcyl.es/universidad/es](http://www.educa.jcyl.es/universidad/es)

SCAYLE, Supercomputación Castilla y León, [www.scayle.es](http://www.scayle.es)

**Ejecución:** 2025 al 2027.

## Financiación del proyecto

TSNC-Trastornos sensoriales y neuroplasticidad cerebral, Financiado por la Consejería de educación de la Junta de Castilla y León. Proyecto concedido para el funcionamiento de las UIC

## Funciones de SCAYLE

Para confirmar si las numerosas mutaciones encontradas en el modelo de epilepsia GASH/Sal pueden estar contribuyendo al fenotipo epiléptico, hemos empleado una serie de herramientas basadas en la secuencia y estructura proteica para ver si dichas mutaciones pueden ser o no relevantes (ej. PROVEAN, JanusDDG etc..). El input de dichas herramientas es una estructura tridimensional en formato PDB, por tanto, necesitamos emplear AlphaFold en numerosas ocasiones para predecir las estructuras correspondientes. Todo el software que se empleará en este proyecto es de libre acceso. En resumen, se necesita de los servicios del HPC para predecir estructuras 3D de proteínas y para ejecutar predicciones sobre el impacto de mutaciones en las proteínas.

## Líder del proyecto

UIC083, Trastornos sensoriales y neuroplasticidad neuronal. Se creó en 2015 y está dirigido por la Dra. Dolores E. López García, con la participación de diversos miembros de la Universidad de Salamanca (<https://produccioncientifica.usal.es/grupos/3704/detalle>). Tiene como líneas de investigación los trastornos audiomotores, fundamentalmente la epilepsia audiogénica, y la neuroplasticidad. Desde su creación, ha publicado 103 artículos y dirigido 23 tesis de doctorado.



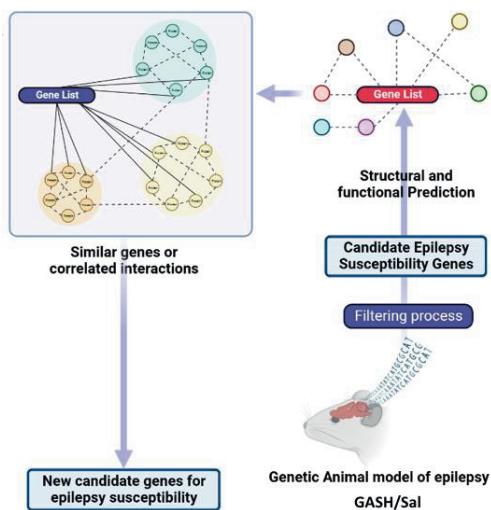
## Justificación del proyecto

La epilepsia es un trastorno neurológico que afecta a aproximadamente 50 millones de personas en el mundo, sin embargo, los factores de riesgo genéticos subyacentes a la epilepsia permanecen sin aclarar. Se estima que más de la mitad de las epilepsias tienen una base genética. El descubrimiento de genes asociados a la epilepsia, excluyendo aquellos implicados en trastornos metabólicos y discapacidad intelectual que pueden presentar alta prevalencia de epilepsia, ha aumentado exponencialmente en la última década, debido fundamentalmente a las tecnologías innovadoras de bajo costo para la secuenciación masiva de ADN, como la tecnología WES (del inglés, secuenciación del exoma completo), que ha hecho posible la identificación de numerosas alteraciones genéticas. Sin embargo, los resultados de la WES se filtran mediante programas bioinformáticos que se centran en la detección de variantes génicas previamente conocidas en la epilepsia, sin tener en cuenta mutaciones relevantes desconocidas en su patogenia. Por ello, es fundamental identificar nuevas variantes genéticas y descubrir los efectos de estas mutaciones. La comprensión de los mecanismos complejos que subyacen a la epileptogénesis no se puede adquirir por completo en estudios clínicos con humanos y, por lo tanto, el uso de modelos animales de epilepsia es crucial. Modelos de convulsiones audiogénicas, que son genéticamente susceptibles a convulsiones inducidas por sonido, han contribuido al conocimiento de esta enfermedad. En particular, el modelo GASH/Sal, una cepa de hámster desarrollada en la Universidad de Salamanca, exhibe una epilepsia audiogénica de origen genético, similar a las convulsiones tónico-clónicas humanas, muestra una herencia autosómica recesiva para la susceptibilidad a las convulsiones, y ya ha sido validado en aspectos conductuales, electroencefalográficos y farmacológicos.

La gran cantidad de variantes genéticas detectadas en el GASH/Sal mediante el análisis nos ha permitido identificar mutaciones génicas de moderado y alto impacto que podrían estar relacionadas con la epilepsia, por lo que podríamos usarlas como filtro en el programa de análisis bioinformático del WES para conocer su presencia, o no, en los pacientes epilépticos.

Una vez identificadas las variantes de interés, hemos evaluado la implicación de cada variante genética en la susceptibilidad a las convulsiones. En este sentido, mediante el empleo de numerosos programas bioinformáticos hemos evaluado los potenciales efectos funcionales de una determinada mutación. En concreto, hemos anotado las variantes

presentes en el modelo GASH/Sal mediante el predictor SnpEff y posteriormente hemos filtrado y seleccionado con SnpSift aquellas mutaciones (SNP e INDELs) en homocigosis que presumiblemente tienen un impacto alto y moderado en el modelo de epilepsia. Posteriormente, se ha evaluado el efecto de las variantes de moderado impacto sobre la funcionalidad de la proteína (conservación evolutiva) y sobre la estabilidad de la proteína. Para ello hemos utilizado numerosos programas bioinformáticos, a saber, Sift4g, PROVEAN, MutPred2, JanusDDG, INPS\_MD, DDGEmb, FoldX5, Dynanut2, Rosetta y PremPS.



Descripción metodológica para la selección de SNPs e INDELs con posible impacto en el fenotipo epiléptico. Se secuenció un modelo genético animal de epilepsia, se aplicó un conjunto de filtros (GO: Biological Process) dirigidos a vías de señalización con relevancia conocida en epilepsia, además de estar en homocigosis y predichas con impacto moderado o alto. La lista de SNPs e INDELs candidatos se sometió a análisis de predicción estructural y funcional y finalmente se comparó directamente o mediante interacción (STRING) con los genes de susceptibilidad descritos por la ILAE. Abreviaturas: GASH/Sal: genetic audiogenic seizures, Salamanca; ILAE: Liga internacional contra la epilepsia; SNPs: polimorfismos de un único nucleótido; INDELs: inserción o delección de nucleótidos en el ADN