

**UNIVERZITA KARLOVA**

**2. lékařská fakulta**

Autoreferát disertační práce



**Význam antineurálních protilátek u pacientů s farmakorezistentní epilepsií**

Significance of neural antibodies in patients with drug refractory epilepsy

**Hana Mojžišová**

Praha, 2023



Disertační práce byla vypracována v rámci *prezenčního* studia doktorského studijního programu Neurovědy na Neurologické klinice 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy.

Školitel:

prof. MUDr. Petr Marusič, Ph.D. (Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol)

Oponenti:

Obhajoba se bude konat před komisí pro obhajoby oborové rady Neurovědy dne ..... v ..... od ..... hod.

Předsedou komise pro obhajobu disertační práce byl jmenován:

Předseda oborové rady a garant doktorského studijního programu:

prof. MUDr. Jan Laczó, Ph.D., Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, V Úvalu 84, Praha 5, 150 06

Děkan fakulty:

prof. MUDr. Marek Babjuk, CSc.

Tato práce vznikla za podpory grantu GAUK č. 746120.

S disertační prací je možno se seznámit na Oddělení Ph.D. studia děkanátu 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy, V Úvalu 84, 150 06 Praha 5 (tel. 224 435 836).

# Význam antineurálních protilátek u pacientů s farmakorezistentní epilepsií

## Abstrakt

Jednou z možných etiologií epilepsie je etiologie autoimunitní, která byla zařazena do klasifikace epilepsií v její poslední revizi publikované v roce 2017 Mezinárodní ligou proti epilepsii. Cílem práce bylo zhodnotit výskyt neurálních autoproti látek u pacientů s epilepsií a rozšířit diagnostické možnosti, které dosud byly v České republice omezené. Spolu s nizozemskými autory jsme popsali výskyt neurálních autoproti látek u nizozemských a českých pacientů s fokální epilepsií neznámé etiologie a navrhli jsme skórovací systém k identifikaci pacientů určených prioritně k vyšetření těchto protilátek. V české kohortě pacientů jsme pak hodnotili výskyt protilátek v séru i likvoru pacientů s farmakorezistentní epilepsií, který byl dosud systematicky vyšetřován jen v ojedinělých kohortách. Výsledky obou těchto prací prokázaly nižší výskyt neurálních autoproti látek, než byl dosud u pacientů s epilepsií popisován, a to díky přísnější metodice s ověřením pozitivních výsledků druhou metodou. Vzhledem k tomu, že neurální autoproti látky jsou primárně sdružovány s autoimunitními encefalitidami, zkoumali jsme i tuto skupinu včetně hodnocení přítomnosti epileptických záchvatů v klinickém profilu. Spolu se švédskými autory jsme se zabývali proteomikou v likvorovém kompartmentu u pacientů s protilátkami proti NMDAR a LGI1, kde jsme popsali asociaci sirtuinu 2 s paraneoplastickou etiologií encefalitidy s protilátkami proti NMDAR. V rámci svého studia jsem zavedla novou metodiku vyšetřování neurálních protilátek na tkáňových řezech potkaních mozků pomocí nepřímé imunohistochemie a popsala kohortu pacientů s klinickým obrazem autoimunitní encefalitidy při negativním průkazu neurálních autoproti látek.

**Klíčová slova:** autoimunitní encefalitida, farmakorezistentní epilepsie, GAD65, LGI1, neurální autoproti látky, NMDAR

# **Significance of neural antibodies in patients with drug refractory epilepsy**

## **Abstract**

One possible etiology of epilepsy is autoimmune, which was included in the classification of epilepsies in its latest revision published in 2017 by the International League Against Epilepsy. The aim of this study was to evaluate the prevalence of neural autoantibodies in patients with epilepsy and to expand the diagnostic possibilities in the Czech Republic. Together with the Dutch authors, we described the prevalence of neural autoantibodies in Dutch and Czech patients with focal epilepsy of unknown etiology and proposed a scoring system to identify patients prioritized for testing for these antibodies. In a Czech cohort of patients, we assessed the presence of antibodies in serum and CSF of patients with drug refractory epilepsy. The results of both these studies showed a lower prevalence of neural autoantibodies than previously described in patients with epilepsy, due to a more rigorous methodology with verification of positive results by a second method. Since neural autoantibodies are primarily associated with autoimmune encephalitis, we also investigated this group, including an assessment of the presence of epileptic seizures in the clinical profile. Together with the Swedish authors, we investigated the proteomics in the CSF compartment of patients with antibodies against NMDAR and LGI1 and described the association of sirtuin 2 with the paraneoplastic etiology of NMDAR encephalitis. The methodology of neural autoantibodies assessment on tissue sections of rat brains using indirect immunohistochemistry was newly implemented in the Czech Republic. We have described a cohort of patients with a clinical picture of autoimmune encephalitis when neural autoantibodies were negative.

**Keywords:** autoimmune encephalitis, drug resistant epilepsy, GAD65, LGI1, neural autoantibodies, NMDAR

## Obsah

1. Úvod.....	7
2. Cíle práce a hypotézy .....	11
3. Metodika a výsledky .....	12
Studie č. 1: Antibodies Contributing to Focal Epilepsy Signs and Symptoms Score.....	12
Studie č. 2: Nízká prevalence neurálních autoprotilátek v perioperačních vzorcích mozkomíšního moku epileptochirurgických pacientů - multicentrická prospektivní studie .....	12
Studie č. 3: Autoimunitní encefalitida s negativitou neurálních.....	13
autoprotilátek - retrospektivní monocentrická analýza.....	13
Studie č. 4: Paraneoplastická autoimunitní encefalitida? Sirtuin 2 u encefalidity s protilátkami proti NMDAR .....	14
4. Souhrnná diskuse.....	16
5. Zhodnocení cílů a hypotéz práce, závěr .....	19
6. Souhrn .....	20
7. Summary .....	21
8. Literatura .....	22
9. Přehled publikační činnosti autora.....	27

## 1. Úvod

Epilepsie je onemocnění charakterizované dispozicí k opakovaným neprovokovaným epileptickým záchvatům, které postihuje miliony lidí na celém světě (Fisher et al. 2014). V roce 2017 byla Mezinárodní ligou proti epilepsii do klasifikace epilepsií zařazena i etiologie *imunitní*, s podskupinou asociovanou s neurálními autoprotilátkami (NAbs) (Scheffer et al. 2017). NAbs byly prvně popsány u autoimunitních encefalitid (AIE), ale v průběhu let bylo vyzorováno, že se nacházejí i u “oligosymptomatických” forem, např. autoimunitní epilepsie, autoimunitní demence. Disertační práce se zabývá jak diagnostikou NAbs, která je nedílnou součástí stanovení diagnózy *epilepsie sdružené s autoimunitou*, tak jejich asociací s AIE, tedy s onemocněním projevujícím se fakultativně epileptickými záchvaty.

Neurální autoprotilátky jsou biomarkerem AIE (Leypoldt et al. 2015) a některých typů epilepsií sdružených s autoimunitou. První skupinou jsou protilátky proti neurálním intracelulárním cílům, např. Hu, dekarboxyláza kyseliny glutamové 65 (GAD65) (Bien et al. 2007, Corsellis et al. 1968). Většina z těchto protilátek je asociována s malignitou. Protilátky z této skupiny se nepovažují za přímo patogenní ani se nepředpokládá jejich přímá role v iktogenezi (Graus et Dalmau 2019).

Druhou skupinou jsou protilátky proti membránovým a synaptickým proteinům neuronů a glií, například N-metyl-D-aspartát receptor (NMDAR) (Dalmau and Graus 2018). V 33 – 100 % (dle typu protilátky), jsou epileptické záchvaty součástí klinického obrazu AIE (Bien et Holtkamp 2017a, Pillai et al. 2016, Geis et al. 2019). Protilátky mají dle studií vliv na funkci a lokalizaci receptorů a na neuronální excitabilitu implikující iktogenezi u AIE (Lalic et al. 2011, Bien et Holtkamp 2017b).

Imunitní epilepsie je v ILAE klasifikaci definována jako taková, která je přímým důsledkem poruchy imunity, u níž jsou záchvaty hlavním příznakem

této poruchy a kde existuje důkaz autoimunitně zprostředkovaného zánětu CNS. V roce 2020 byla kategorie imunitní etiologie ILAE revidována a byly vyčleněny dvě jednotky – *epilepsie sdružená s autoimunitou* (autoimmune-associated epilepsy) a *akutní symptomatické záchvaty v rámci autoimunitní encefalitidy* (acute symptomatic seizures secondary to autoimmune encephalitis) (Steriade et al. 2020), kdy se záchvaty vyskytují v akutní / aktivní fázi encefalitidy. Pokud po залечení zánětu vymizí, nedochází k rozvoji epilepsie. Na druhé straně může být v průběhu akutní fáze iniciována epileptogeneze, která vyústí v rozvoj epilepsie jako následku AIE, tedy se jedná o *epilepsii sdruženou s autoimunitou* (Tan et al. 2021). Třetí možností je přítomnost NAbs u pacientů s epilepsií bez anamnézy AIE či encefalopatie (Borusiak et al. 2016, Bruijn et al. 2021).

Velké množství studií zkoumalo prevalenci NAbs u různých skupin pacientů s epilepsií. V závislosti na typu kohorty a použité definici byla prevalence protilátek ve velmi širokém rozmezí 3,4 až 35 % (Dubey et al. 2017, Bruijn et al. 2021). Kohorty s vyšší prevalencí byly zřejmě nadhodnoceny tím, že tyto studie zahrnovaly i *akutní symptomatické záchvaty v rámci autoimunitní encefalitidy*. Autoimunitní etiologie epilepsie u dospělé populace je nyní odhadována na 7 % (Husari et Dubey 2019, Cabezudo-García et al. 2021).

Byť mají pacienti s AIE často akutní symptomatické záchvaty jako součást onemocnění, je celková pravděpodobnost rozvoje epilepsie po léčbě AIE nízká, zejména u protilátek proti povrchovým antigenům (Geis et al. 2019, Ilyas-Feldmann et al. 2021, Bruijn et al. 2019). U většiny z nich je riziko <5 %, jen mírně vyšší je u LGI1 encefalitidy a GABA-AR encefalitidy (Pillai et al. 2016, Geis et al. 2019). U pacientů s AIE s protilátkami proti intracelulárním antigenům je riziko rozvoje epilepsie vyšší (Geis et al. 2019, Ilyas-Feldmann et al. 2021). Mezi intracelulární antigeny řadíme i GAD65. Onemocnění asociovaná s GAD65 jsou od většiny AIE odlišné – často probíhají plíživě, bez akutní encefalitické fáze (Malter et al. 2010).

Třetí skupinou *epilepsií sdružených s autoimunitou* jsou epilepsie autoimunitní etiologie s negativitou protilátek (typickým příkladem je Rasmussenova encefalitida) kdy je předpokládána dominantní role jiné složky imunity nebo nedostatečné detekční metody na přítomné protilátky (Bien et Holtkamp 2017a, Feyissa et al. 2017).

Ukazuje se, že imunoterapie je superiorní vůči potizáchvatové léčbě (ASM) u pacientů s AIE a *epilepsií sdruženou s autoimunitou* (Beghi et Shorvon 2011, Bruijn et al. 2019). Imunoterapie u AIE u 62 až 75% pacientů redukuje počet záchvatů o >50% (Toledano et al. 2014, Iorio et al. 2015, Feyissa et al. 2018, Iorio et al. 2015, Elisak et al. 2018). Efekt imunoterapie závisí od typu protilátky. Typickým příkladem skupiny s nízkou odpovědí na imunoterapii jsou GAD65 asociovaná onemocnění (Toledano et al. 2014).

Nejčastější strukturální lézí u pacientů s FRE podstupujících operaci byla dříve hipokampální skleróza (HS) (Walker 2015), ale v posledních letech se s mírnou převahou stala nejčastější fokální kortikální dysplazie (FCD) (Baud et al. 2018). Ačkoli je FCD považována za vrozenou strukturální abnormalitu, histopatologická analýza vzorků prokázala určitou účast vrozené buněčné imunity a interleukinového systému v oblasti této léze (Ravizza et al. 2006, Choi et al. 2009). Účast imunitního systému byla obdobně prokázána i u HS (Leal et al. 2017). Navíc bylo u HS zjištěno, že i bez průkazu aktivního zánětlivého procesu může u části pacientů jít o následek dříve prodělané limbické encefalitidy. Přesný podíl imunitních dějů na vzniku a udržování záchvatů a na rozvoji HS je stále nedořešenou otázkou a může zde působit souhra mnoha faktorů.

V podskupině pacientů s epilepsií temporálního laloku, kteří podstoupili chirurgickou resekci, byl u pacientů s neurálními autoprotiilátkami významně horší outcome operace ve srovnání s pacienty bez protilátek. Vymizení záchvatů bylo například dosaženo pouze u 16 % z nich, na rozdíl od obvykle udávaných 70 % v kohortách s negativními protilátkami (Carreño et al. 2017a).

Předpokládá se, že pokračující záchvaty mohou být způsobeny bilaterálními funkčními nebo strukturálními lézemi, které jsou u případů s pozitivními protilátkami časté (Kerling et al. 2008, Carreño et al. 2017b).

Testování NAbs je komplexní problematika. Klinicky obdobný syndrom může být asociován s více protilátkami, a naopak jednotlivá protilátka může způsobovat fenotypově odlišné syndromy. Vzhledem k tomu je doporučeno testovat panely protilátek a to jak proti intracelulárním, tak proti membránovým a synaptickým antigenům a používat různé metody detekce ke zvýšení senzitivity i specificity (Storstein et al. 2011, Déchelotte et al. 2020). Metody detekce se liší dle typu protilátky. U protilátek proti intracelulárním antigenům se používají imunoblotty (Western blot nebo line blot), pro detekci GAD65 protilátek také enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), radioimmunoassay (RIA) či cell-based assay (CBA) (Muñoz-Lopetegi et al. 2020). Další metodou jsou paraformaldehydem fixované tkáňové řezy (Ances et al. 2005). Tímto vyšetřením není možné určit konkrétní antigen, vůči kterému se daná protilátka navázala, k tomu slouží výše uvedený line blot. Vyšetření na tkáňových řezech však výrazně zvyšuje senzitivitu (zachytí i vzácnější protilátky) a slouží k verifikaci výsledku na line blotu. U protilátek proti povrchovým antigenům jsou metody testování jiné. První metodou je testování pomocí cell-based assay (CBA), která protilátky proti konkrétním antigenům. Druhou jsou tkáňové řezy jsou pro detekci protilátek proti povrchovým antigenům připraveny s nefixovanou tkání. Nejsou komerčně dostupné, využívají se jen ve výzkumných laboratořích jako „research use only“ (RUO). Závěrem, detekce protilátek je metodologicky komplikovaná a je doporučeno testovat oba typy protilátek dvěma metodami. V praxi se jedná o line blot v kombinaci s komerčně dostupnými tkáňovými řezy proti intracelulárním protilátkám, a CBA v kombinaci s RUO tkáňovými řezy detekujícími povrchové antigeny.

## **2. Cíle práce a hypotézy**

Cíl č. 1: Stanovit klinické parametry, které by umožnily určit pacienty indikované k vyšetření NAbs. Hypotéza č. 1: Část pacientů s fokální epilepsií neznámé etiologie má ve skutečnosti epilepsii sdruženou s autoimunitou. Na základě klinických charakteristik lze identifikovat pacienty s fokální epilepsií neznámé etiologie, u kterých je testování NAbs indikované. Cíl a hypotézu č. 1 zkoumá studie č. 1.

Cíl č. 2: Určit výskyt NAbs v séru a likvoru u pacientů s FRE podstupujících epileptochirurgický zákrok. Dalším cílem je u pacientů s FRE s pozitivitou NAbs definovat jejich klinické charakteristiky, které by v budoucnosti mohli pomoci v časně identifikaci této skupiny. Hypotéza č. 2: NAbs budou pozitivní u více než 5 % pacientů a u části pacientů budou pozitivní pouze v likvoru. Nejčastější budou protilátky proti GAD65. U části pacientů bude na tkáňových řezech detekována přítomnost protilátek proti dosud neidentifikovaným antigenům. Protilátky se budou častěji vyskytovat u pacientů s epilepsií zatím neurčené etiologie, u pacientů s HS, a u pacientů bez rizik pro rozvoj epilepsie. Cíl a hypotézu č. 2 zkoumá studie č. 2.

Cíl č. 3: Určit počet pacientů s AIE jako možnou příčinou epilepsie sdružené s autoimunitou, kteří nemají pozitivní NAbs. Hypotéza č. 3: Část pacientů s AIE nemá detekovatelné NAbs. U části pacientů protilátky nejsou detekovány, protože nevyužíváme všechny dostupné metody a/nebo nesprávně interpretujeme výsledky. Cíl a hypotézu č. 3 zkoumá studie č. 3.

Cíl č. 4: Určit biomarkery probíhající zánětu u AIE, které by umožnily odlišit akutní symptomatické epileptické záchvaty jako projev AIE od epilepsie, která je jejím následkem. Hypotéza č. 4: U části pacientů lze detekovat biomarkery predikující rozvoj či průběh onemocnění. Cíl a hypotézu č. 4 zkoumá studie č. 4.

### **3. Metodika a výsledky**

#### **Studie č. 1: Antibodies Contributing to Focal Epilepsy Signs and Symptoms Score**

Metody: Do této prospektivní multicentrické kohortové studie byli zařazeni dospělí s fokální epilepsií neznámé etiologie, bez diagnostikované AIE. Pomocí různých laboratorních technik bylo analyzováno sérum a v případě dostupnosti i likvor. Skóre ACES bylo vytvořeno pomocí mnohorozměrné logistické regrese.

Výsledky: Do studie bylo zařazeno 582 pacientů s mediánem trvání epilepsie 8 let. Dvacet pacientů (3,4 %) mělo epilepsii sdruženou s autoimunitou z nichž 3 měli protilátky proti LGI1, 3 proti CASPR2, 1 proti NMDAR a 13 proti GAD65. Rizikovými faktory byly hyperintenzity temporálně na MRI (poměr šancí [OR] = 255,3, 95% interval spolehlivosti [CI] = 19,6-3332,2,  $p < 0,0001$ ), autoimunitní onemocnění (OR = 13,31, 95% CI = 3,1-56,6,  $p = 0,0005$ ), porucha chování (OR 12,3, 95% CI = 3,2-49,9,  $p = 0,0003$ ), autonomní příznaky (OR = 13,3, 95% CI = 3,1-56,6,  $p = 0,0005$ ), kognitivní deficit (OR = 30,6, 95% CI = 2,4-382,7,  $p = 0,009$ ) a porucha řeči (OR = 9,6, 95% CI = 2,0-46,7,  $p = 0,005$ ). Každý z těchto faktorů má v ACES skóre hodnotu 1 bodu. Skóre  $\geq 2$  má 100 % senzitivitu a 84,9 % specifitu pro epilepsii sdruženou s autoimunitou.

#### **Studie č. 2: Nízká prevalence neurálních autoprotilátek v perioperačních vzorcích mozkomíšního moku epileptochirurgických pacientů - multicentrická prospektivní studie**

Metody: Prospektivní nábor pacientů podstupujících operaci epilepsie pro refrakterní fokální epilepsii, která není způsobena nádorem mozku, jsme provedli v epileptochirurgických centrech v České republice. Perioperačně

jsme odebrali vzorky likvoru a/nebo séra a provedli komplexní diagnostiku autoprotilátek. Klinické údaje byly získány z dokumentace pacientů a byla provedena histopatologická analýza resekované mozkové tkáně.

Výsledky: Do studie bylo zařazeno 76 pacientů. Pouze jeden pacient (1,3 %) měl dobře charakterizované protilátky v likvoru a séru (proti GAD65) v relevantních titrech. Kromě HS u něj byla při histopatologickém vyšetření nalezena FCD typu I. Ve vzorcích pěti pacientů byly nalezeny oligoklonální pásy (OCB, 6,6 %) izolovaně v likvoru – ve třech případech se jednalo o FCD (u jednoho pacienta typ II a u dvou typ I), v jednom případě o HS a jeden případ byl histologicky negativní.

U osmi pacientů byly při vyšetření protilátek v jednotlivých testech séra a/nebo likvor zjištěny nálezy, které nebylo možné potvrdit doplňkovými testy a byly klasifikovány jako nespecifické, avšak bez potvrzujícího vyšetření by mohly být považovány za specifické. Z nich dvě měly FCD, dvě gliózu a čtyři HS. U žádného ze 76 pacientů nebyly pozorovány zánětlivé změny.

### **Studie č. 3: Autoimunitní encefalitida s negativitou neurálních autoprotilátek - retrospektivní monocentrická analýza**

Metody: Do této retrospektivní monocentrické studie byli zařazeni dospělí pacienti, jejichž sérum a/nebo likvor byly zaslány do našeho terciárního centra k vyšetření neurálních autoprotilátek v letech 2011 – 2020, kteří vstoupili do diagnostického algoritmu jako možná AIE s negativitou protilátek a měli následující: (1) pravděpodobnou AE s negativními NAbS, definitivní akutní diseminovanou encefalomyelitidu (ADEM) s negativními NAbS nebo definitivní autoimunitní limbickou encefalitidu (LE) podle diagnostických kritérií; (2) dostupné údaje o MRI mozku, vyšetření likvoru a EEG a (3) uskladněné vzorky séra a/nebo likvoru. Tyto vzorky byly znovu komplexně analyzovány dalšími metodami.

Výsledky: Z 2250 pacientů bylo 33 (1,5 %) klasifikováno jako možná AIE s negativitou protilátek. Z toho u 5 z nich byly komplexním testováním zjištěny protilátky, 5 splňovalo kritéria pravděpodobné AIE (3F:2M, medián věku 67 let, rozmezí 42-67 let), 4 definitivní autoimunitní LE (2F:2M, medián věku 45,5 let, rozmezí 27-60 let), jeden definitivní ADEM s negativitou Nabs, 2 Hashimotovy encefalopatie, jeden neměl k dispozici vzorky pro další testování a 15 nebylo dále kategorizováno. Z 10 pravděpodobných/definitivních AE/LE/ADEM měl jeden maligní onemocnění, celkem 80 % pacientů dostávalo imunoterapii včetně kortikosteroidů a 60 % pacientů dostávalo rituximab, azathioprin, cyklofosfamid, výměnu plazmy nebo intravenózní imunoglobuliny. U 50 % pacientů došlo ke zlepšení, u 10 % ke stabilizaci, u 10 % ke zhoršení a 30 % zemřeli. Všechna úmrtí byla považována za související s encefalitidou. U pacientů léčených imunoterapií jsme nepozorovali rozdíly v pravděpodobnosti zlepšení s nesteroidní imunoterapií nebo bez ní (s 2/6, bez 1/2).

#### **Studie č. 4: Paraneoplastická autoimunitní encefalitida? Sirtuin 2 u encefalitidy s protilátkami proti NMDAR**

Metody: V této retrospektivní explorativní studii spolupracovala švédská a česká neuroimunologická centra. Vyšetřeno bylo 58 vzorků likvoru od 28 pacientů s AIE (14 s definitivní NMDAR, 14 s definitivní LGI1 encefalitidou) a 30 kontrol. Vzorky likvoru byly analyzovány pomocí technologie proximity extension assay (Olink Target 96 Inflammation panel). U každého vzorku bylo měřeno 92 proteinů. Retrospektivně byly shromážděny klinické proměnné a statisticky analyzovány korelace s hladinami proteinů.

Výsledky: Pacienti a kontrolní skupiny se významně lišili v následujících 18 biomarkerech: TNFRSF9, TNFRSF12, TNFRSF14, TNF $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL7, IL10, IL12B, IFN $\gamma$ , CD5, CD6, CASP8, MMP1, CXCL8, CXCL10, CXCL11,

IL20RA a sirtuin 2 (SIRT2). U encefalitidy LGI1 nebyla zjištěna žádná klinicky užitečná souvislost mezi biomarkery a klinickými proměnnými. Ve skupině NMDAR encefalitidy byly SIRT2, TNF $\beta$  a CD5 významně spojeny s teratomem ovarii. V případě SIRT2 to platilo dokonce i pro první vzorek likvoru pacientů (SIRT2 bez vs. s nádorem, průměr  $\pm$  SD =  $2,2 \pm 0,29$  vs.  $2,88 \pm 0,48$ ;  $p = 0,007$ , 95% interval spolehlivosti = -1,15 až -0,22; rpb = 0,66,  $p = 0,011$ ). SIRT2 pozitivně koreloval s věkem (rpb = 0,39,  $p = 0,018$ ) a celkovým počtem dní hospitalizace ( $r = 0,55$ ,  $p = <0,001$ ).

## 4. Souhrnná diskuse

Disertační práce se zabývala tématem NAbs u pacientů s FRE. Práce zkoumaly protilátky jak u pacientů s epilepsií, tak u AIE, jejichž oligosymptomatická forma nemusí být podchycena v časném stádiu a pacienti mohou být poprvé zachyceni až ve stádiu epilepsie sdružené s autoimunitou. Pro správné pochopení významu NAbs je důležité do hloubky rozumět jejich diagnostice. Proto bylo součástí studia zavedení nové experimentální metody diagnostiky v České republice.

Pro zdravotnický systém je důležitá otázka správné preselekce skupiny pacientů, u kterých je vhodné protilátky testovat. Na téma faktorů asociovaných s autoimunitou u pacientů s fokální epilepsií neznámé etiologie se zaměřila **studie č. 1**. Vytvořili a validovali jsme jednoduché skóre z 6 charakteristik, dle kterého lze na základě klinických parametrů indikovat vyšetření NAbs. Jedná se o: kognitivní deficit, poruchu řeči, dysautonomii, hyperintenzity v meziálních temporálních lalocích na FLAIR sekvencích MRI, poruchu chování, anamnézu autoimunitního onemocnění. Toto skóre mělo lepší senzitivitu než dosud užívaná skóre, a to zejména u pacientů s protilátkami proti GAD65.

U části AIE asociovaných s NAbs lze jejich přítomnost detekovat jen v mozkomíšním moku. Vzhledem k této možné izolované pozitivitě protilátek v likvoru i u pacientů s epilepsií sdruženou s autoimunitou jsme se rozhodli zaměřit na skupinu pacientů s FRE indikovanou k resekčnímu výkonu, kde odběr likvor mohl proběhnout perioperačně – tomuto se věnovala **studie č. 2**. V této skupině jsme zachytili nižší prevalenci protilátek, než bylo dosud uváděno v literatuře. Náš soubor zahrnoval všechny pacienty s fokální FRE indikované k operaci a nebyl selektován s ohledem na typ a etiologii epilepsie (kromě vyloučení nádorů). Byli zahrnuti i pacienti se strukturálními lézemi, jako je malformace korového vývoje, což mohlo snížit procento případů

pozitivních na protilátky. Mnoho případů FCD je však MRI–negativních (Wang et al. 2013) a je tedy pravděpodobné, že by tito pacienti byli zahrnuti do kohort studujících protilátky u epilepsie “s neznámou” etiologií. Vzhledem k rostoucímu povědomí o možné autoimunitní etiologii se při předoperačním vyšetření stále častěji provádí hodnocení možné asociace s autoimunitou. U pacientů, u nichž se taková etiologie potvrdí, se epileptochirurgický zákrok často odkládá nebo je dokonce kontraindikován. Tato preselekce mohla přispět k tomu, že v našem souboru byl jen jeden pacient s pozitivními protilátkami. Nicméně v rutinní praxi jsme většinou vyšetřovali NAbs u pacientů s epilepsií pouze komerčně dostupnými metodami, o kterých je známo, že mají nižší citlivost.

Pro určení potenciálního významu NAbs jako biomarkeru epilepsie sdružené s autoimunitou a při zavádění metody detekce na tkáňových řezech jsme se v rámci **studie č. 3** zaměřili na skupinu AIE, které nejsou sdružené s neurálními autoprotiilátkami. Jedním z důležitých výstupů této studie i pro pacienty s epilepsií sdruženou s autoimunitou je pozorování, že část pacientů při nedostatečně komplexním testování může být klasifikována do skupiny s negativitou protilátek. Vzhledem k tomu, že skupina protilátkově negativních autoimunitních epilepsií není krom Rasmussenovy encefalitidy dobře definována, je komplexní protilátková diagnostika s cílem odhalení pacientů s negativním vyšetřením na komerčních testech pro praxi velmi důležitá. Než budou k dispozici jiné biomarkery pro epilepsii sdruženou s autoimunitou než autoprotiilátky, jeví se jejich precizní diagnostika jako jediné řešení aplikovatelné do klinické praxe.

Potenciálními biomarkery AIE a jejich asociací s klinickými proměnnými včetně přítomnosti záchvatů a status epilepticus se zabývala **studie č. 4**. Pomocí proteomické analýzy jsme identifikovali sirtuin 2 jako potenciální biomarker paraneoplastické etiologie. Vzhledem k retrospektivnímu designu studie a absenci prospektivního sledování u všech pacientů nebylo možno u většiny

pacientů rozlišit, zda detekované epileptické záchvaty byly v rámci aktivní AIE, nebo se již jednalo o rozvinutou epilepsii sdruženou s autoimunitou. Vzhledem k tomu, že u NMDAR a LGI1 encefalitidy při dobře vedené léčbě jen malé procento pacientů rozvine epilepsii sdruženou s autoimunitou (Geis et al. 2019), naše skupina by musela být výrazně větší a dlouhodobě sledována, abychom jsme byli toto schopni spolehlivě hodnotit. V této studii jsme se proto zabývali jen přítomností epileptických záchvatů a status epilepticus v akutním stadiu onemocnění. Přítomnost epileptických záchvatů, včetně status epilepticus, byla spojena spíše s nižšími než vyššími hladinami zánětlivých biomarkerů. V případě status epilepticus při odběru vzorků byly hladiny TNFSF14 a TWEAK významně nižší u pacientů s NMDAR encefalitidou a TNF $\beta$  byl významně nižší u pacientů s LGI1 encefalitidou ve srovnání s kontrolami. Zda je relativní snížení těchto markerů příčinou či důsledkem status epilepticus, nebo náhodným nálezem, je třeba ještě objasnit.

## **5. Zhodnocení cílů a hypotéz práce, závěr**

Cílem disertační práce bylo studovat NAbs u pacientů s FRE. Vzhledem k jejich asociaci s AIE jsme se zaměřili i na tuto skupinu a zejména na skupinu bez přítomnosti protilátek. Cílem první studie bylo zlepšit diagnostiku epilepsií sdružených s autoimunitou vytvořením skóre k identifikaci pacientů u kterých má být provedeno testování protilátek. Toto skóre má zejména u skupiny s protilátkami proti GAD65 dobrou senzitivitu. Toto skóre se podařilo validovat na nezávislé kohortě pacientů našich pacientů. Cílem druhé studie bylo posoudit prevalenci NAbs v multicentrické národní prospektivní kohortě pacientů s FRE, kteří podstoupili epileptochirurgický zákrok, s využitím komplexní klinické, sérologické a histopatologické analýzy. V našem souboru byla jen u jednoho pacienta prokázána přítomnost specifických protilátek proti GAD65, které vzhledem k průběhu onemocnění a histopatologickému nálezu mohly být ale pouhý epifenomén a autoimunita nemusela ani u tohoto pacienta hrát významnou roli. Vzhledem k tak nízkému zachytu jsme pak nebyli schopni analyzovat a porovnávat jednotlivé podskupiny této kohorty mezi sebou. Cílem třetí studie bylo identifikovat pacienty s AIE s negativitou NAbs, kteří jsou dosud v literatuře popisováni jen vzácně. Naším cílem bylo popsat klinické rysy, spouštěcí faktory, léčbu a outcome. Analýzou rozsáhlého souboru pacientů testovaných na přítomnost protilátek jsme vzhledem k striktním diagnostickým kritériím selektovali jen malou skupinu. Její velikost znemožnila jinou než deskriptivní analýzu, jak je u vzácných onemocnění časté. Cílem čtvrté studie bylo identifikovat biomarkery související s klinickým obrazem, prognózou, asociací s tumory a asociací s epileptickými záchvaty v rámci klinického obrazu u pacientů s NMDAR a LGI1 encefalítidou. V této práci se podařilo identifikovat marker paraneoplastické etiologie, ale nebyl nalezen žádný marker, který by predikoval protražované epileptické záchvaty v rámci akutního stádia AIE či následný rozvoj epilepsie.

## 6. Souhrn

Cílem disertační práce bylo studovat neurální autoprotilátky u pacientů s farmakorezistentní epilepsií a zlepšit protilátkovou diagnostiku v České republice.

První studie vytvořila skóre pro selekci pacientů s fokální epilepsií neznámé etiologie vyžadujících vyšetření neurálních autoprotilátek. Skóre pozůstává z šesti jednoduchých bodů, je dobře klinicky aplikovatelné a má vysokou senzitivitu u pacientů s GAD65 asociovaným autoimunitním postižením CNS narozdíl od dříve publikovaných skóre.

Druhá studie měla za cíl identifikovat protilátky jak v séru, tak v likvoru u pacientů s farmakorezistentní epilepsií podstupujících resekci mozkové tkáně. Protilátky (proti GAD65) byly přítomny pouze u jednoho pacienta (1,3 %). U pacientů s oligoklonálními pásy izolovaně v likvoru byl průběh méně příznivý. Práce poukázala na riziko nadhodnocení autoimunitní etiologie epilepsie při použití méně robustní metodiky stanovení autoprotilátek.

Třetí studie se zabývala AIE s negativitou neurálních autoprotilátek, k čemu využila komplexní diagnostiku protilátek včetně detekce na tkáňových řezech, která byla v České republice doktorandkou zavedena. Práce významně rozšířila dosud publikovanou literaturu na toto téma.

Čtvrtá studie hledala potenciální biomarkery pro diagnostiku AIE a jejich asociaci s klinickým obrazem. Byla zjištěna asociace sirtuinu 2 v likvoru s paraneoplastickou etiologií u NMDAR encefalitidy. U NMDAR encefalitidy byl nalezen biomarker asociován s absencí epileptických záchvatů a to TNFSF14, TNF, IL12B, IFN $\gamma$ , CXCL10, naopak hladiny TNFSF14 a TWEAK byly signifikantně nižší u pacientů s epileptickým statem v době odběru. Tyto biomarkery bude dále možné testovat ve studiích s většími kohortami pacientů.

## 7. Summary

The aim of this dissertation was to study neural autoantibodies in patients with drug resistant epilepsy and to improve antibody diagnostics in the Czech Republic.

The first study established a score for selection of patients with focal epilepsy of unknown etiology requiring neural autoantibody testing. The score consists of six simple items and is well clinically applicable. Furthermore, it has high sensitivity in patients with GAD65-associated immunity in contrast to previously published scores.

The second study aimed to identify antibodies in both serum and CSF of patients with drug-resistant epilepsy undergoing brain tissue resection. Antibodies (against GAD65) were present in one patient (1.3%). In patients with oligoclonal bands isolated in the CSF, the course was less favorable. This work highlighted the risk of overestimating the autoimmune etiology of epilepsy using less robust methods for autoantibody testing.

The third study looked at AIE with neural autoantibody negativity, using comprehensive antibody diagnostics, including detection on rat brain tissue sections, which was introduced in the Czech Republic for the first time and is currently an established experimental method. The work significantly extended the previously published literature on this topic.

The fourth study searched for potential biomarkers for the diagnosis of AIE and their association with the clinical picture. An association of sirtuin 2 in the CSF with paraneoplastic etiology in NMDAR encephalitis was found. In NMDAR encephalitis, the biomarkers associated with the absence of epileptic seizures were found to be TNFSF14, TNF, IL12B, IFN $\gamma$ , CXCL10, whereas TNFSF14 and TWEAK levels were significantly lower in patients with status epilepticus at the time of sampling. These biomarkers can be further tested in studies with larger patient cohorts.

## 8. Literatura

1. Ances BM, Vitaliani R, Taylor RA, Liebeskind DS, Voloschin A, Houghton DJ, et al. Treatment-responsive limbic encephalitis identified by neuropil antibodies: MRI and PET correlates. *Brain*. 2005;128(8):1764–77.
2. Baud MO, Perneger T, Rácz A, Pensel MC, Elger C, Rydenhag B, et al. European trends in epilepsy surgery. *Neurology*. 2018;91(2):e96–106.
3. Beghi E, Shorvon S. Antiepileptic drugs and the immune system. *Epilepsia*. 2011;52(s3):40–4.
4. Bien CG, Holtkamp M. “Autoimmune Epilepsy”: Encephalitis with Autoantibodies for Epileptologists. *Epilepsy Curr*. 2017a;17(3):134–41.
5. Bien CG, Urbach H, Schramm J, Soeder BM, Becker AJ, Voltz R, et al. Limbic encephalitis as a precipitating event in adult-onset temporal lobe epilepsy. *Neurology*. 2007;69(12):1236–44.
6. Borusiak P, Bettendorf U, Wiegand G, Bast T, Kluger G, Philippi H, et al. Autoantibodies to neuronal antigens in children with focal epilepsy and no prima facie signs of encephalitis. *European J Paediatr Neurology*. 2016;20(4):573–9.
7. Brenner T, Sills GJ, Hart Y, Howell S, Waters P, Brodie MJ, et al. Prevalence of neurologic autoantibodies in cohorts of patients with new and established epilepsy. *Epilepsia*. 2013;54(6):1028–35.
8. Bruijn MAAM, Bastiaansen AEM, Mojzisoava H, Sonderen A, Thijs RD, Majoie MJM, et al. Antibodies Contributing to Focal Epilepsy Signs and Symptoms Score. *Ann Neurol*. 2021;89(4):698–710.
9. Bruijn MAAM de, Sonderen A van, Coevorden-Hameete MH van, Bastiaansen AEM, Schreurs MWJ, Rouhl RPW, et al. Evaluation of seizure treatment in anti-LGI1, anti-NMDAR, and anti-GABABR encephalitis. *Neurology*. 2019;92(19).

10. Cabezudo-García P, Mena-Vázquez N, Ciano-Petersen NL, García-Martín G, Estivill-Torrús G, Serrano-Castro PJ. Prevalence of Neural Autoantibodies in Epilepsy of Unknown Etiology: Systematic Review and Meta-Analysis. *Brain Sci.* 2021;11(3):392.
11. Carreño M, Bien CG, Asadi-Pooya AA, Sperling M, Marusic P, Elisak M, et al. Epilepsy surgery in drug resistant temporal lobe epilepsy associated with neuronal antibodies. *Epilepsy Res.* 2017a;129:101–5.
12. Choi J, Nordli DR, Alden TD, DiPatri A, Laux L, Kelley K, et al. Cellular injury and neuroinflammation in children with chronic intractable epilepsy. *J Neuroinflamm.* 2009;6(1):38.
13. Corsellis J, Goldberg GJ, Norton AR. “Limbi encephalitis” and its association with carcinoma. *Brain.* 1968;91(3):481–96.
14. Dalmau J, Graus F. Antibody-Mediated Encephalitis. *New Engl J Medicine.* 2018;378(9):840–51.
15. Déchelotte B, Muñiz-Castrillo S, Joubert B, Vogrig A, Picard G, Rogemond V, et al. Diagnostic yield of commercial immunodots to diagnose paraneoplastic neurologic syndromes. *Neurology - Neuroimmunol Neuroinflammation.* 2020;7(3):e701.
16. Elisak M, Krysl D, Hanzalova J, Volna K, Bien CG, Leypoldt F, et al. The prevalence of neural antibodies in temporal lobe epilepsy and the clinical characteristics of seropositive patients. *Seizure.* 2018;63:1–6.
17. Feyissa AM, Chiriboga ASL, Britton JW. Antiepileptic drug therapy in patients with autoimmune epilepsy. *Neurology Neuroimmunol Neuroinflammation.* 2017;4(4):e353.
18. Feyissa AM, Lamb C, Pittock SJ, Gadoth A, McKeon A, Klein CJ, et al. Antiepileptic drug therapy in autoimmune epilepsy associated with antibodies targeting the leucine-rich glioma-inactivated protein 1. *Epilepsia Open.*

2018;3(3):348–56.

19. Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, Bogacz A, Cross JH, Elger CE, et al. ILAE Official Report: A practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*. 2014;55(4):475–82.

20. Geis C, Planagumà J, Carreño M, Graus F, Dalmau J. Autoimmune seizures and epilepsy. *J Clin Investigation*. 2019;129(3):926–40.

21. Graus F, Dalmau J. Paraneoplastic neurological syndromes in the era of immune-checkpoint inhibitors. *Nat Rev Clin Oncol*. 2019.

22. Husari KS, Dubey D. Autoimmune Epilepsy. *Neurotherapeutics*. 2019;1–18.

23. Ilyas-Feldmann M, Prüß H, Holtkamp M. Long-term seizure outcome and antiseizure medication use in autoimmune encephalitis. *Seizure*. 2021;86:138–43.

24. Iorio R, Assenza G, Tombini M, Colicchio G, Marca GD, Benvenga A, et al. The detection of neural autoantibodies in patients with antiepileptic-drug-resistant epilepsy predicts response to immunotherapy. *Eur J Neurol*. 2015;22(1):70–8.

25. Kerling F, Blümcke I, Stefan H. Pitfalls in diagnosing limbic encephalitis – a case report. *Acta Neurol Scand*. 2008;118(5):339–42.

26. Lalic T, Pettingill P, Vincent A, Capogna M. Human limbic encephalitis serum enhances hippocampal mossy fiber-CA3 pyramidal cell synaptic transmission. *Epilepsia*. 2011;52(1):121–31.

27. Leal B, Chaves J, Carvalho C, Rangel R, Santos A, Bettencourt A, et al. Brain expression of inflammatory mediators in Mesial Temporal Lobe Epilepsy patients. *J Neuroimmunol*. 2017;313:82–8.

28. Leypoldt F, Armangue T, Dalmau J. Autoimmune encephalopathies. *Ann Ny Acad Sci*. 2015;1338(1):94–114.

29. Malter MP, Helmstaedter C, Urbach H, Vincent A, Bien CG. Antibodies to

glutamic acid decarboxylase define a form of limbic encephalitis. *Ann Neurol*. 2010;67(4):470–8.

30. Muñoz-Lopetegi A, Bruijn MAAM de, Boukhrissi S, Bastiaansen AEM, Nagtzaam MMP, Hulsenboom ESP, et al. Neurologic syndromes related to anti-GAD65: Clinical and serologic response to treatment. *Neurology - Neuroimmunol Neuroinflammation*. 2020;7(3):e696.

31. Pillai SC, Mohammad SS, Hacoheh Y, Tantsis E, Prelog K, Barnes EH, et al. Postencephalitic epilepsy and drug-resistant epilepsy after infectious and antibody-associated encephalitis in childhood: Clinical and etiologic risk factors. *Epilepsia*. 2016;57(1):e7–11.

32. Ravizza T, Boer K, Redeker S, Spliet WGM, Rijen PC van, Troost D, et al. The IL-1beta system in epilepsy-associated malformations of cortical development. *Neurobiol Dis*. 2006;24(1):128–43.

33. 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.

34. Steriade C, Britton J, Dale RC, Gadoth A, Irani SR, Linnoila J, et al. Acute symptomatic seizures secondary to autoimmune encephalitis and autoimmune-associated epilepsy: Conceptual definitions. *Epilepsia*. 2020;61(7):1341–51.

35. Storstein A, Monstad SE, Haugen M, Mazengia K, Veltman D, Lohndal E, et al. Onconeural antibodies: Improved detection and clinical correlations. *J Neuroimmunol*. 2011;232(1–2):166–70.

36. Tan TH, Perucca P, O'Brien TJ, Kwan P, Monif M. Inflammation, ictogenesis, and epileptogenesis: An exploration through human disease. *Epilepsia*. 2021;62(2):303–24.

37. Toledano M, Britton JW, McKeon A, Shin C, Lennon VA, Quek AML, et

al. Utility of an immunotherapy trial in evaluating patients with presumed autoimmune epilepsy. *Neurology*. 2014;82(18):1578–86.

38. Walker MC. Hippocampal Sclerosis: Causes and Prevention. *Semin Neurol*. 2015;35(03):193–200.

39. Wang ZI, Alexopoulos AV, Jones SE, Jaisani Z, Najm IM, Prayson RA. The pathology of magnetic-resonance-imaging-negative epilepsy. *Modern Pathol*. 2013;26(8):1051–8.

## 9. Přehled publikační činnosti autora

1. Původní vědecké práce, které jsou podkladem disertační práce:

a) s IF

de Bruijn M, Bastiaansen AE, **Mojzisova H**, van Sonderen A, Thijs R, Majoie M, Rouhl R, van Asseldonk T; van Donselaar C, Wirtz P, Vinke A, van Coevorden-Hameete M, de Vries JM, Muñoz Lopetegi A, Roozenbeek B, Elisak M, Marusic P, Leypoldt F, Nagtzaam M, Hulsboom E, de Graaff E, Schreurs M, Sillevius Smitt P, Titulaer MJ. The Antibodies Contributing to focal Epilepsy Signs and symptoms (ACES) score. *Annals of Neurology*. 2021. IF (2021): 11.274

**Mojzisova H**, Elisak M, Krysl D, Hanzalova J, Kalina A, Petrzalka M, Dolezalova I, Cervenka M, Cvickova B, Lesko R, Sroubek J, Sochurkova D, Hemza J, Brichtova E, Dargvainiene J, Vojtech Z, Brazdil M, Wandinger KP, Leypoldt F, Marusic P. Low prevalence of neural autoantibodies in perioperative CSF samples of epilepsy surgery patients - a multicenter prospective study. *Epilepsia*. 2024 - currently in review (minor revision). IF (2022): 5.6

Stevens-Jones O, **Mojzisova H**, Elisak M, Constantinescu R, Hanzalova J, Axelsson M, Krysl D. Paraneoplastic or not? Sirtuin 2 in anti-N-methyl-d - aspartate receptor encephalitis. *Eur J Neurol*. 2023. IF (2023): 5.1

**Mojžišová H**, Krýsl D, Hanzalová J, Dargvainiene J, Wandinger KP, Leypoldt F, Elišák M, Marusič P. Antibody-Negative Autoimmune Encephalitis: A Single-Center Retrospective Analysis. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflammation*. 2023. IF (2022): 8.8

b) bez IF: 0

2. Původní vědecké práce, které souvisí s tématem disertační práce, ale nejsou jejím podkladem:

a) s IF

**Mojžišová H**, Elišák M, Hanzalová J, Petržalka M, Marusič P. Autoimunitní encefalitidy s negativitou neurálních protilátek – klinické charakteristiky a možnosti detekce protilátek. *Česká a Slovenská Neurologie a Neurochirurgie* 2020. IF (2020): 0,35

Tietz A, Angstwurm K, Baumgartner T, Doppler K, Elišák M, Franke A, Geis Ch/Wickel J, Golombeck K, Handreka R, Kaiser R, Kaufmann M, Kraft A, Krämer M, Lewerenz J, Lieb W, Malter M/Madlener M, Melzer N, **Mojziso** **H**, Möller P, Pfefferkorn T, Rostásy K, Schnegelsberg M, Siebenbrodt K, Sühs K-W, Thaler FS, Wandinger KP, Leypoldt F, Kuhlenbäumer G. Genome-wide association study identifies two new loci associated with anti-NMDAR encephalitis. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm.* 2021. IF (2021) 11,360

b) bez IF

**Mojžišová H**, Elišák M, Hanzalová J, Krýsl D, Marusič P. Autoimunitní meningoencefalitida asociovaná s anti-GFAP protilátkami - kazuistika. *Neurol. praxi.* 2023;24(2):155-157.

**Mojžišová H**, Elišák Martin, Ph.D., Marusič Petr. Laboratorní biomarkery - antineurální protilátky u autoimunitních onemocnění CNS. *Neurol. praxi.* 2023;24(3):200-205.

3. Původní vědecké práce in extenso bez vztahu k tématu disertace.

a) s IF

Petržalka M, Meluzínová E, **Mojžišová H**, Libertínová J, Ročková P, Němá E, et al. Effectiveness of natalizumab extended interval dosing in multiple sclerosis patients. *Cesk Slov Neurol N.* 2020. IF (2020): 0,35

Libertinova J, Meluzinova E, Nema E, Rockova P, Elisak M, Petrzalka M, **Mojzisova H**, Hammer J, Tomek A, Marusic P. Elevated D-dimer as an immediate response to alemtuzumab treatment. *Multiple Sclerosis Journal* 2020. IF (2020): 6,312

Petržalka M, Meluzínová E, Libertínová J, **Mojžišová H**, Hanzalová J, Ročková P, Elišák M, Kmetonyová S, Šanda J, Sobek O, Marusič P. IL-2, IL-6 and chitinase 3-like 2 might predict early relapse activity in multiple sclerosis. *PLOS ONE*. 2021. IF (2021): 3,752

b) bez IF

**Mojžišová H**, Elišák M. Profil pacienta se sekundárně progresivní RS - jakého pacienta směřovat do centra. *Neurol. praxi* 2021; 22(5): 398-402.

Elišák M, **Mojžišová H**, Tomek A. Autoimunitní onemocnění s dominujícím postižením bílé hmoty mozku. *Neurol. praxi*. 2023;24(3):180-186.

4. Přednášky, plakátová sdělení na odborných setkáních.

11/2019 - ústní prezentace na téma “Autoimunitní encefalitidy s negativitou neurálních protilátek”, Československý neurologický kongres 2019, Praha

5/2022 - ústní prezentace na téma “GFAP astrocytopatie v diferenciální diagnóze aseptické meningoencefalitidy”, 20. Jedličkovy neuroimunologické a likvorologické dny, Praha

6/2023 - ústní prezentace na téma “Autoimunitní encefalitidy s negativitou neurálních autoprotilátek” European Academy of Neurology Congress, Budapešť, Maďarsko

