

**Univerzita Karlova**  
**2. lékařská fakulta**

Autoreferát dizertační práce



**Vliv časně léčby na psychomotorický vývoj u dětí s epileptickou  
encefalopatií**

*Průběh a léčba epileptické encefalopatie u dětí s malformacemi kortikálního vývoje*

The effect of early treatment on psychomotor development in children with  
epileptic encephalopathy

*The clinical course and treatment of epileptic encephalopathy in children with malformations  
of cortical development*

**MUDr. Barbora Beňová**

Praha (2018)

**Doktorské studijní programy v biomedicině**  
*Univerzita Karlova a Akademie věd České republiky*

Obor: neurovědy

Předseda oborové rady: prof. MUDr. Karel Šonka, DrSc.

Školící pracoviště: Klinika dětské neurologie 2.If UK a FN Motol

Autor: MUDr. Barbora Beňová

Školitel: prof. MUDr. Pavel Kršek, Ph.D.

Oponenti:

Autoreferát byl rozeslán dne:

Obhajoba se koná dne: .....v .....hod.  
kde: .....

S dizertační prací je možno se seznámit na děkanátu  
2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy.

## OBSAH

Abstrakt (v češtině).....	3
Abstract (v angličtině ).....	4
<b>1. ÚVOD</b> .....	<b>5</b>
1.1 Epilepsie – definice : .....	5
1.2 Vývojová a epileptická encefalopatie: .....	5
1.3 MCD, FCD a TSC jako specifické příčiny vývojové a epileptické encefalopatie a farmakorezistentní epilepsie: .....	6
1.4 Poruchy kognitivního vývoje u dětí s farmakorezistentní epilepsií na podkladě TSC a FCD: .....	7
1.5 Vliv epileptochirurgie na kognitivní výkon dětí s fokální farmakorezistentní epilepsií: .....	7
1.6 Nové poznatky o genetickém podkladě fokálních MCD a FCD: .....	8
<b>2. CÍLE A HYPOTÉZY PRÁCE</b> .....	<b>9</b>
<b>3. MATERIÁL A METODIKA</b> .....	<b>9</b>
<b>4. VÝSLEDKY</b> .....	<b>9</b>
<b>5. DISKUZE</b> .....	<b>9</b>
<b>6. SOUHRNY STUDIÍ</b> .....	<b>10</b>
Studie č. 1: Časné prediktory klinického a kognitivního vývoje u dětí s tuberózní sklerózou – prospektivní studie .....	10
Studie č. 2: Cesta k <i>in vivo</i> fenotypizaci fokální kortikální dysplázie s použitím kvantitativní MRI .....	11
Studie č. 3: Kognitivní výkon v jednotlivých skupinách dětských pacientů podstupujících epileptochirurgii – zkušenosti z jednoho centra .....	13
Studie č. 4: Přehled variant genů GATOR1 asociovaných s epilepsií .....	14
Studie č. 5: Korelace genotypu a fenotypu u fokálních malformací kortikálního vývoje – cesta k integrované diagnóze v patologii u pacientů podstupujících epileptochirurgii .....	16
Studie č. 6: Klinické využití masivně paralelního sekvenování u pacientů s malformacemi kortikálního vývoje. Pilotní studie .....	17
<b>7. ZÁVĚRY</b> .....	<b>19</b>
<b>8. POUŽITÁ LITERATURA</b> .....	<b>20</b>
<b>9. SEZNAM PUBLIKACÍ AUTORKY</b> .....	<b>22</b>

## **ABSTRAKT**

Dětští pacienti s fokální farmakorezistentní epilepsií na podkladě fokálních MCD, FCD a TSC jsou ve vysokém riziku rozvoje opoždění kognitivního vývoje jak vlivem jejich farmakorezistentní epilepsie, tak v důsledku možného abnormálního uspořádání neuronálních sítí na genetickém podkladě. Epileptochirurgie představuje spolehlivou a bezpečnou metodu léčby fokální farmakorezistentní epilepsie a přináší těmto pacientům šanci jak na život bez záchvatů a antiepileptické medikace, tak na optimální kognitivní vývoj. Dosavadní údaje o genetických příčinách FCD a fokálních MCD a jejich přidružených komorbiditách nabízí možnosti rozšíření diagnostického procesu u kandidátů epileptochirurgie. Informace o genetické příčině FCD a MCD ale prozatím nedostačují k přesnějšímu určení prognózy na dosažení stavu bez záchvatů a s normálního kognitivního vývoje. Budoucí studie na větších souborech pacientů by mohly vést k objasnění role genetických, elektrofyziologických a anatomických změn na prognózu pacientů podstupujících epileptochirurgii.

## **ABSTRACT**

Children with focal intractable epilepsy caused by MCD, FCD and TSC are in a high risk of development of cognitive delay, as a result of both drug resistant epilepsy and genetically determined abnormal structure of the neuronal networks. Epilepsy surgery represents an established and safe treatment method of focal drug resistant epilepsy, and increases the chances for these patients to be rid of epileptic seizures, anti-epileptic medication and cognitive comorbidities. Current data on genetic background of focal MCD and FCD and their comorbidities provide space to expand the diagnostic process in epilepsy surgery candidates. However, available information on genetic causes of MCD and FCD do not allow us to infer prognostic estimates on chances of seizure freedom and optimal cognitive development. Future studies should elucidate these uncertainties.

## **1. ÚVOD**

### **1.1 Epilepsie – definice**

Epilepsie je chronické onemocnění mozku charakterizované dispozicí ke vzniku epileptických záchvatů na podkladě synchronizované, desinhibované elektrické aktivity neuronů. V roce 2014 se rozhodnutím Mezinárodní ligy proti epilepsii (International League Against Epilepsy – ILAE) rozšířila tradiční definice epilepsie jako onemocnění charakterizovaného výskytem dvou neprovokovaných anebo reflexních epileptických záchvatů v odstupu více než 24 hodin od sebe. Nová definice definuje další dvě situace, kromě již zmiňované, v nichž lze u pacienta diagnózu epilepsie stanovit: (1) výskyt jednoho neprovokovaného záchvatu a riziko opakování záchvatu více než 60% po dobu deseti let a (2) diagnóza epileptického syndromu (Fisher et al. 2014). Epileptický syndrom je v nové ILAE klasifikaci záchvatů chápán jako soubor klinických, elektrofyziologických a neurozobrazovacích charakteristik, které mají tendenci se vyskytovat společně, ačkoliv jednoznačná definice epileptického syndromu doposud nebyla zavedena. Epileptický syndrom může též charakterizovat věk výskytu, obvyklé asociované komorbidity a též typický průběh v čase (Berg et al. 2010; Scheffer et al. 2017).

### **1.2 Vývojová a epileptická encefalopatie**

Epileptickou encefalopatii původně charakterizovali Bergová a kolegové v dokumentu ILAE jako koncept, kdy „samotná epileptická aktivita přispívá k těžkému kognitivnímu a behaviorálnímu postižení nad míru toho, co lze očekávat od samotné patologie (např. malformace kortikálního vývoje) a toto se může v čase zhoršovat“ (Berg, et al. 2010).

V některých případech „epileptických“ encefalopatií se ale pacienti prezentovali s opožděním psychomotorického vývoje a kognitivním deficitem nezávislým na výskytu anebo frekvenci záchvatů a tomu odpovídajícím nálezem na EEG, a tedy jejich klinický průběh neodpovídal zmiňované ILAE definici. Současně přibývaly informace o genetických příčinách těchto netypických „epileptických“ encefalopatií, a tak ILAE v nové klasifikaci ustanovila pojem „vývojová a epileptická encefalopatie“. Koncept „vývojové a epileptické encefalopatie“ připouští, že v některých případech představují vývojové opoždění a epilepsie dva související, nicméně nikoliv nezbytně na sobě závislé, projevy komplexního geneticky podmíněného onemocnění CNS. Různé klinické a genetické jednotky se tedy spíše pohybují na spektru od typické epileptické encefalopatie, kdy epileptická aktivita prokazatelně podmiňuje opoždění

psychomotorického vývoje, až po typickou vývojovou encefalopatii, kdy vývojové opoždění až regres probíhá nezávisle na epilepsii a někdy ještě před jejím rozvojem (Scheffer, et al. 2017).

### **1.3 MCD, FCD a TSC jako specifické příčiny vývojové a epileptické encefalopatie a farmakorezistentní epilepsie**

Malformace kortikálního vývoje (malformations of cortical development – MCD) představují široké spektrum vývojových malformací mozkové kůry a podkorových struktur, které se projevují opožděním psychomotorického vývoje, motorickými a jinými neurologickými deficity a epilepsií (Guerrini and Dobyns 2014). V současnosti užívaná klasifikace (Barkovich et al. 2012) dělí MCD na základě pravděpodobného načasování inzultu ve vývoji mozkové kůry na tři skupiny: MCD vznikající (1) na podkladě abnormálního proliferace anebo apoptózy neuronů a glií, (2) na podkladě abnormální neuronální migrace a (3) na podkladě abnormálního postmigračního vývoje.

Strukturální fokální epilepsie na podkladě MCD bývá obtížně léčitelná dostupnými antiepileptiky a pro vybrané pacienty představuje chirurgická léčba epilepsie jedinou možnost zbavit se záchvatů (Ryvlin et al. 2014). Ve velkých epileptochirurgických souborech se ukazuje, že malformace kortikálního vývoje představují nejčastější příčinu fokální farmakorezistentní epilepsie na strukturálním podkladě u dětí, přičemž u dospělých jsou až na třetím místě (po hipokampální skleróze a tumorech) (Blumcke et al. 2017), ačkoliv i v této skupině roste podíl FCD (Baud et al. 2018). Přibližně 40% dětí podstupujících epileptochirurgii trpí malformacemi kortikálního vývoje, z největší části fokální/lobární kortikální dysplázií; přibližně v 5% případů je příčinou jejich epilepsie TSC (Blumcke, et al. 2017; Harvey et al. 2008).

Ačkoliv Barkovichova klasifikace sdružuje pacienty s FCD typu II do jedné skupiny s pacienty s TSC, pacienti s TSC se od pacientů s FCD liší jak klinickým obrazem, tak epileptochirurgickými přístupy. V 85% případů rozvinou pacienti s TSC epilepsii, většinou v prvním roce života (Chu-Shore et al. 2010), a více než polovina časem přestane reagovat na antiepileptickou medikaci (Teutonico et al. 2008). Za anatomicko-patologický podklad vzniku epilepsie se považují dysplastické léze, ať už charakteru kortikálních a kortiko-subkortikálních tuberů a nebo typická ložiska fokální kortikální dysplázie – tyto léze se, společně s migračními liniemi v bílé hmotě, dle posledních diagnostických kritérií shrnují pod pojmem „kortikální dysplázie“ (Northrup et al. 2013). Právě mnohočetné dysplastické léze mozkové kůry,

přítomny u pacientů s TSC, se v počátcích epileptochirurgie považovaly za kontraindikaci pro chirurgickou léčbu epilepsie, jelikož pomocí dostupných metod nešlo určit, která z lézí představuje zdroj záchvatů. Dnes se pacienti s TSC standardně zařazují do epileptochirurgického programu a dosahují stabilně dobrých výsledků; 55% pacientů je po operaci bez záchvatů (Krsek et al. 2013).

#### **1.4 Poruchy kognitivního vývoje u dětí s farmakorezistentní epilepsií na podkladě TSC a FCD**

Přibližně 40% pacientů s TSC trpí různě závažným stupněm kognitivního deficitu (Joinson et al. 2003), který nemusí nutně kauzálně souviset s těžkou epilepsií (Curatolo et al. 2016), a též poruchami autistického spektra (Curatolo et al. 2004). Ačkoliv průběh onemocnění odpovídá většinou tradičnímu chápání epileptické encefalopatie s těžkou, farmakorezistentní epilepsií, jež podmiňuje opoždění psychomotorického/kognitivního vývoje, existují údaje o pacientech, kteří rozvinuli kognitivní deficit bez přispění epileptické aktivity. TSC lze tedy vnímat i jako klasickou vývojovou a epileptickou encefalopatii s variabilním přispěním epileptické aktivity a geneticky podmíněné abnormality neuronálních sítí k rozvoji kognitivního deficitu (Curatolo, et al. 2016). Na rozdíl od TSC jakožto vývojové a epileptické encefalopatie, u pacientů s FCD lze na základě klinického obrazu a průběhu onemocnění konstatovat, že jejich onemocnění se více přibližuje původnímu Bergově chápání konceptu epileptické encefalopatie. Recentní studie japonských autorů uvádí, že časný rozvoj epilepsie, vysoká frekvence záchvatů, přítomnost epileptických spasmů a status epilepticus se pojí s horším kognitivním výkonem. Naopak, přítomnost alespoň šestiměsíčního období bez záchvatů a výskyt fokálních záchvatů bez poruchy vědomí spíše snižuje riziko kognitivního deficitu (Kimura et al. 2018).

#### **1.5 Vliv epileptochirurgie na kognitivní výkon dětí s fokální farmakorezistentní epilepsií**

Epileptochirurgie se považuje za standardní, ověřenou a spolehlivou metodou k eliminaci, event. snížení frekvence, epileptických záchvatů u dětí s fokální farmakorezistentní epilepsií (Braun and Cross 2018). Zásadní otázkou však zůstává, jaký vliv má epileptochirurgie na jejich kognitivní vývoj. Tento ovlivňuje celá řada faktorů, které se projevují, ještě než pacient dospěje k operaci. K významným prediktorům kognitivní dysfunkce patří např. nižší věk při rozvoji záchvatů, časté záchvaty, historie status epilepticus a další (Kimura, et al. 2018). S tím souvisí i fakt, že předoperační IQ/DQ se uvádí jako významný nezávislý prediktor

pooperačního IQ/DQ, společně s trváním epilepsie a pooperační bezzáchvatovosti (Van Schooneveld and Braun 2013). Různé studie identifikovaly další možné faktory s vlivem na pooperační IQ/DQ, např. etiologii, věk při operaci, vysazení antiepileptické medikace a jiné (Van Schooneveld and Braun 2013). Zejména efekt pokračující antiepileptické léčby, se všemi potenciálními nežádoucími účinky na kognitivní vývoj, se ukazuje jako klíčový moment při hodnocení dynamiky kognitivního zotavování po epileptochirurgii (Boshuisen et al. 2015). Na základě uvedených studií lze tedy shrnout, že pro dětské pacienty s fokální farmakorezistentní epilepsií na strukturálním podkladě představuje časná epileptochirurgie s kompletním odstraněním epileptogenní zóny nejlepší šance k dosažení stavu bez záchvatů a bez negativních kognitivních následků jak epilepsie, tak antiepileptické medikace.

### **1.6 Nové poznatky o genetickém podkladě fokálních MCD a FCD**

Ještě v počátcích třetího tisíciletí byla fokální kortikální dysplázie vnímána jako jednoznačně sporadické onemocnění, jehož genetický původ se jevil celkem stejně pravděpodobně jako původ pre/perinatální (Krsek et al. 2010) anebo dokonce infekční (Chen et al. 2012). Když však Leventer publikoval sérii rodin s několika členy postiženými FCD, gangliogliomem, DNET anebo hemimegalencefalií, bylo zjevné, že v těchto případech se nejspíš o náhodně sdružený výskyt sporadického onemocnění nejedná (Leventer et al. 2014). Studie po příchodu metod sekvenování nové generace prokázaly, že (1) patogenní varianty v genech *TSC1* a *TSC2* jsou přítomné ve vzorcích FCD a (2) po experimentálním zavedení dané varianty do myšního embrya, tyto myši rozvinou poruchu neuronální migrace, cytologické abnormality podobné FCD a epilepsii (Lim et al. 2017). Dále se ukázalo, že FCD a hemimegalencefalie představují z genetického hlediska jednu entitu s různým stupněm rozsahu a závažnosti (D'Gama et al. 2017). Kromě genů *TSC1* a *TSC2* se v patogenezi FCD a fokálních MCD uplatňují i jiné geny signální kaskády mTOR, resp. PI3K/AKT/mTOR, např. samotný gen *MTOR*, dále *PIK3CA*, *AKT3* a další. Aktivitu mTOR signální kaskády reguluje několik proteinových komplexů a jedním z nich je i komplex GATOR1. GATOR1 regulační komplex kódují společně geny *NPRL2*, *NPRL3* a *DEPDC5* a jejich germinální varianty byly nalezeny u pacientů s různými druhy familiární fokální epilepsie (Baldassari et al. 2016), FCD (Weckhuysen et al. 2016) a hemimegalencefalie (D'Gama et al. 2015).

## **2. CÍLE A HYPOTÉZY PRÁCE**

Cíl č. 1: Stanovení prediktorů opoždění psychomotorického vývoje a rozvoje autismu u pacientů s vývojovou a epileptickou encefalopatií na podkladě tuberózní sklerózy jako typického příkladu epileptické encefalopatie na genetickém a strukturálním podkladě.

Hypotéza č. 1: Opoždění psychomotorického vývoje a rozvoj poruch autistického spektra je spojen s těžkou, farmakologicky obtížně ovlivnitelnou epilepsií.

Cíl a hypotézu č. 1 zkoumá studie č. 1.

Cíl č. 2: Stanovení faktorů, které ovlivňují kognitivní vývoj u dětských pacientů podstupujících epileptochirurgii pro farmakorezistentní epilepsii na podkladě malformací kortikálního vývoje a benigních tumorů.

Hypotéza č. 2: Faktory asociované s těžkou epilepsií jsou asociovány s nižším předoperačním IQ/DQ. Epileptochirurgický výkon vede k nárůstu IQ/DQ po operaci.

Cíl a hypotézu č. 2 zkoumá studie č. 3.

Cíl č. 3: Objasnění genetického pozadí malformací kortikálního vývoje se zaměřením se na pacienty podstupující epileptochirurgii pro farmakorezistentní epilepsii na podkladě fokálních malformací kortikálního vývoje.

Hypotéza č. 3: V patogenezi rozvoje fokálních MCD se nejvíc uplatňují geny mTOR signální kaskády.

Cíl a hypotézu č. 3 zkoumají studie č. 4 a 5.

## **3. MATERIÁL A METODIKA**

Metodika je uvedena v souhrnech jednotlivých studií.

## **4. VÝSLEDKY**

Výsledky jsou uvedené v souhrnech jednotlivých studií.

## **5. DISKUZE**

Diskuze jsou uvedené v souhrnech jednotlivých studií.

## 6. SOUHRNY STUDIÍ

### Studie č. 1: Časné prediktory klinického a kognitivního vývoje u dětí s tuberózní sklerózou – prospektivní studie

Ve studii č. 1 jsme v období od roku 2002 do roku 2014 na Klinice dětské neurologie 2.lf UK a FN Motol sledovali 29 pacientů, u kterých se v pre- nebo v perinatálním období zjistila přítomnost srdečního rhabdomyomu jako prvního diagnostického příznaku onemocnění tuberózní sklerózou (tuberous sclerosis complex – TSC). Prospektivně – od doby zařazení (diagnózy) do konce sledování - jsme sbírali informace o psychomotorickém a kognitivním vývoji pacientů, o jejich onemocnění epilepsií, neurologickém nález, společně s výsledky elektrofyziologických a neurozobrazovacích vyšetření. Jako sledované závislé proměnné popisující nepříznivý kognitivní vývoj jsme zvolili přítomnost kognitivního deficitu (ID), těžkého kognitivního deficitu a poruchy autistického spektra (ASD). Nevladatelnou epilepsii jako další parametr charakterizovala přítomnost epileptických záchvatů, počet užívaných antiepileptik na konci sledování a jejich souhrnný počet po celou dobu sledování. Poslední sledovanou proměnnou byla přítomnost mutace v genech *TSC1* nebo *TSC2*, kde jsme hledali asociaci genetické změny s ostatními nezávislými proměnnými.

Kognitivní deficit byl asociován s vyšším celkovým počtem užívaných antiepileptik ( $p < 0.001$ , FDR < 0.05) a s vyšším počtem známek fokální kortikální dysplázie na MRI ( $p < 0.01$ , FDR < 0.05). Výskyt ASD se statisticky signifikantně spojoval s výskytem časným opožděním psychomotorického vývoje ( $p < 0.01$ , FDR < 0.05, PPV 11.1% NPV 33.3%) a abnormální základní aktivitou na EEG na konci sledování ( $p < 0.01$ , FDR < 0.05, PPV 11.1% NPV 25%). U pacientů s patogenní variantou v genu *TSC2* jsme významně častěji pozorovali vyšší celkový počet užívaných antiepileptik ( $p < 0.01$ , FDR < 0.05), abnormální základní aktivitu v době diagnózy epilepsie ( $p < 0.05$ , FDR < 0.05) a vyšší počet známek fokální kortikální dysplázie na MRI ( $p < 0.01$ , FDR < 0.05). Vyšší počet antiepileptik na konci sledování, kromě zmíněné asociace s patogenní variantou v *TSC2* genu, koreloval též s vyšším počtem známek FCD na MRI ( $p < 0.0001$ , FDR < 0.01, Person's rho = 0.82 CI95% (0.55, 0.94)). Tyto známky byly častěji přítomné také u pacientů s vyšším celkovým počtem užívaných antiepileptik ( $p < 0.0001$ , FDR < 0.01, Person's rho = 0.82 CI95% (0.55, 0.94)).

Rozvoj kognitivního deficitu (ID) se pojil s přítomností farmakorezistentní epilepsie (vyjádřeno vyšším počtem užívaných antiepileptik) a těžším anatomickým postižením mozku na MRI. Ačkoliv vztah mezi abnormální základní aktivitou na EEG na konci sledování a

rozvojem ID nedosáhl hladiny statistické významnosti, z patofyziologického hlediska uvažujeme, že abnormální základní aktivita na EEG u pacientů s TSC a epilepsií může odrážet neúčinnou antiepileptickou léčbu. Společné prediktory rozvoje ID a ASD (např. přítomnost časného opoždění psychomotorického vývoje, vyšší počet známek fokální kortikální dysplázie na MRI a abnormální základní aktivita na EEG na konci sledování) podporují známou skutečnost, že ASD se často pojí s ID a naopak; zároveň ukazují na komplexnost vztahů mezi anatomickými změnami na mozku, farmakorezistentní epilepsií a abnormitami v kognitivním vývoji. V naší studii jsme také longitudinálně sledovali změny na EEG u pacientů s TSC. Na rozdíl od publikovaných zjištění (Józwiak et al. 2011) se nám nepodařilo prokázat podíl interiktálních epileptiformních výbojů na kognitivní funkce sledovaných pacientů. Nicméně se ukázalo, že abnormální základní aktivita na EEG se může asociovat s rozvojem kognitivního deficitu. Prezentovaná studie ukazuje na možný podíl farmakorezistentní epilepsie na nepříznivý kognitivní vývoj u pacientů s tuberózní sklerózou. Cílem pečlivého klinického sledování pacientů s TSC by tedy mělo být co nejčasnější odhalení epileptických záchvatů a jejich rychlá a účinná léčba.

## **Studie č. 2: Cesta k *in vivo* fenotypizaci fokální kortikální dysplázie s použitím**

### **kvantitativní MRI**

Na studii č.2 se autorka podílela v průběhu své stáže na UCL Great Ormond Street Institute of Child Health, University College London a sepsala část studie, která se věnuje genetickým příčinám fokální kortikální dysplázie.

Kortikální dysplázie jsou vysoce epileptogenní typ malformací kortikálního vývoje (malformations of cortical development – MCD) a často vedou k rozvoji fokální farmakorezistentní epilepsie u dětí i dospělých. U dětí představují nejčastější příčinu farmakorezistentní epilepsie v epileptochirurgických sériích, s výskytem až u 42% dětských epileptochirurgických pacientů (Harvey, et al. 2008). Neinvazivní klasifikace jednotlivých podtypů FCD je v klinické praxi zásadní z několika důvodů. V první řadě, epileptogenicita léze souvisí s typem FCD (Boonyapisit et al. 2003). Dále, je-li léze patrná na MRI, usnadňuje to plánování epileptochirurgického výkonu (Tellez-Zenteno et al. 2010) a typ FCD také ovlivňuje prognózu – pacienti s FCD typu I a IIa mají nižší šanci na dosažení stavu bez záchvatů než pacienti s FCD typu IIb (Muhlebner et al. 2012). V současné době existují dvě oblasti experimentálního výzkumu v zobrazovacích metodách, které by mohly přinést

přesnější kvantitativní měření struktury mozku. První metodu představuje výpočetní anatomie (computational anatomy), která se zabývá automatickou extrakcí morfologických známek a statistickou analýzou map šedé a bílé hmoty z T1-, T2-vážených (T1/T2 weighted - T1w, T2w), FLAIR snímků (Fluid Attenuated Inversion Recovery) a T2-vážených snímků s potlačeným signálem mozkomíšního moku. Tato morfologická data lze následně korelovat s histopatologickými a genetickými daty. Druhá metoda je známá jako kvantitativní MRI (qMRI), která poskytuje odhad parametrů, na nichž závisí intenzita signálu zobrazení. Parametry kvantitativní MRI odrážejí strukturu tkáně a biofyzikální vlastnosti na úrovni mikrometrů. Ve studii hodnotíme možný přínos qMRI na hodnocení typů FCD a na závěrem diskutujeme potřebu kombinace přístupů výpočetní anatomie a qMRI „in vivo histologie“ pro neinvazivní charakterizaci FCD.

Otázkou zůstává možnost využití qMRI k hodnocení parametrů FCD, které vznikají důsledkem komplexní souhry genů na formování mozkové kůry. V posledních letech narůstají znalosti o genetických příčinách fokální epilepsie na podkladě FCD (Baulac et al. 2015). Ukázalo se, že některé genetické změny ovlivňují strukturu mozkové kůry a podkorových struktur (Hibar et al. 2015; Peper et al. 2007), avšak dosavadní studie na korelaci neurozobrazovacích a genetických změn se prováděly zejména na modelu mesiotemporální epilepsie (mesialtemporal lobe epilepsy – MTLE) u pacientů a jejich prvostupňových příbuzných (Whelan et al. 2015). Ukázalo se např., že změny mikrostruktury bílé hmoty sdílí pacienti s MTLE se svými sourozenci (Whelan, et al. 2015), avšak podobný vztah genetických a neurozobrazovacích aspektů u FCD doposud nebyl nalezen. Literární údaje zdůrazňují, že nelze spolehlivě určit typ FCD pouze na základě radiologických rysů. Navzdory tomu, radiologové dokáží předpovědět typ FCD s větší přesností, než by odpovídala náhodě. Z toho lze usuzovat, že při zohlednění kombinace vlastností lze zpřesnit *in vivo* klasifikaci FCD. Díky technickému pokroku jsme schopni získat kvantitativní MRI parametry v klinicky přijatelném čase. Současně, korelace qMRI parametrů a tkáňové mikrostruktury je předmětem intenzivního zkoumání. Pomocí spojení s výpočetními metodami lze hodnotit široké spektrum parametrů jak na globální tak lokální úrovni, což přibližuje metody MRI tkáňové klasifikace klinické praxi.

### **Studie č. 3: Kognitivní výkon v jednotlivých skupinách dětských pacientů podstupujících epileptochirurgii – zkušenosti z jednoho centra**

Do studie byli zařazeni dětské pacienti ve věku do 19-ti let, kteří podstoupili resekční epileptochirurgii v období od 1.1.2000 do 31.12.2017 (celkem 203 pacientů: 103 chlapců, 100 děvčat). Ve studii jsme retrospektivně analyzovali vztah mezi hodnotami inteligenčního/vývojového kvocientu (intelligence/developmental quotient - IQ/DQ) před a po epileptochirurgii a jeho změnou (rozdíl hodnoty předoperačního a pooperačního IQ/DQ) a faktory související se základním onemocněním a s operačním výkonem. Abychom zhodnotili změny v kognitivním výkonu pacientů operovaných v období rozvíjejícího se epileptochirurgického programu oproti zavedenému programu, rozdělili jsme sledovací období na dvě – před a po r. 2011, podobně jako publikovali Lamberink a kolegové (Lamberink et al. 2015).

Regresní analýza popisující vztah před- a pooperačního IQ/DQ ukázala, že pacienti mají tendenci k vyššímu IQ po operaci oproti období před operací a že hodnoty předoperačního IQ/DQ významně korelují s hodnotami pooperačního IQ/DQ ( $Rho=0.888$ ,  $p<0.001$ ); nejvýznamnější nárůst byl pozorován u pacientů s nižším předoperačním IQ/DQ. Nenalezli jsme statisticky signifikantní rozdíl v IQ/DQ před a po operaci i v jejich změně mezi obdobími před a po r. 2011 jak v celé sledované kohortě pacientů ( $p=0,70$ ,  $p=0,47$ ,  $p=0,80$ ), tak ve skupinách dle epileptického syndromu (temporální, extratemporální a hemisferální epilepsie), histopatologické diagnózy a ve skupinách získaných anebo vrozených lézí. Pacienti s temporální, extratemporální a hemisferální epilepsií se od sebe navzájem liší v hodnotách jejich předoperačního IQ/DQ ( $F=6.83$ ,  $p=0.001$ ) a IQ/DQ změně ( $F=6.63$ ,  $p=0.002$ ); post-hoc analýza ukázala signifikantní rozdíl u pacientů s hemisferální epilepsií (oproti pacientům s temporální a extratemporální epilepsií). Nalezli jsme též statisticky signifikantní rozdíly v před- a pooperačním IQ/DQ mezi skupinami pacientů dle jejich histopatologického nálezu ( $F=6.56$ ,  $p<0.001$  a  $F=7.44$ ,  $p<0.001$ ). V rámci skupin dle typu FCD jsme pozorovali rozdíly mezi pacienty s jednotlivými skupinami FCD v před a pooperačním IQ/DQ ( $F=4.89$ ,  $p<0.001$  and  $F=4.73$ ,  $p<0.001$ ).

Na základě výsledků naší studie usuzujeme, že epileptochirurgie má tendenci vést u pacientů ke kognitivnímu zlepšení. Výsledek regresní analýzy ukazuje, že zvýšení pooperačního skóre IQ/DQ dosahuje 9,1 bodu; tento nález hodnotíme jako klinicky významný, v souladu

s publikovanou souhrnnou studií nizozemských autorů (Van Schooneveld and Braun 2013), kteří hodnotí nárůst IQ/DQ o 8-15 bodů jako klinicky významné zlepšení. Hodnoty před-, pooperačního IQ/DQ a jejich změny, ať už v celém souboru nebo v jednotlivých skupinách pacientů dle etiologie a epileptického syndromu, se významně nelišily v období před a po r. 2011. Tuto skutečnost lze interpretovat jednak tak, že spektrum operovaných pacientů se s ohledem na jejich kognitivní výkon v průběhu rozvoje epileptochirurgického programu skutečně nezměnilo. Naše analýzy potvrdily, že pacienti s hemisferálním epileptickým syndromem dosahují významně nižšího kognitivního výkonu než pacienti s temporální anebo extratemporální epilepsií. Zároveň ale mají největší potenciál k pooperačnímu zvýšení IQ/DQ oproti pacientům z jiných skupin. Naopak, pacienti s benigními glioneurálními nádory vykazují významně vyšší před- i pooperační IQ/DQ než ti s jinými vývojovými abnormitami (např. TSC nebo MCD). Vzhledem k jejich tendenci dosahovat dobré pooperační výsledky jak stran odstranění epileptických záchvatů, tak zlepšení kognitivního výkonu, představují tito pacienti ideální kandidáty časně epileptochirurgie. Závěrem lze shrnout, že pacienti s různými etiologiemi vstupují do epileptochirurgického programu s odlišnými skóre IQ/DQ, jejich míra změny mezi před- a pooperačním IQ/DQ se ale neliší – z toho lze usuzovat, že pacienti napříč etiologickým spektrem mohou profitovat z časně epileptochirurgie.

#### **Studie č. 4: Přehled variant genů GATOR1 asociovaných s epilepsií**

Uvádíme zde mezinárodní multicentrickou studii, do které jsme zařadili pacientku z našeho sledovaného souboru a jejího postiženého otce. Autorka dizertační práce navrhla panel vyšetřovaných genů, interpretovala a ověřila výsledky genetického vyšetření u této pacientky, jejího otce a u dalších pacientů, kteří do studie zařazeni nebyli.

Pacienti s různými druhy variant (missense, splice-site/region altering, nonsense, in-frame/frame shift indels, copy-number variants [CNVs]) v genech *NPRL2*, *NPRL3* a *DEPDC5* byli referováni z center v Belgii, Kanadě, Dánsku, Francii, Itálii, Německu, Švýcarsku, Nizozemsku, České republice, Velké Británii a Spojených státech amerických. Genomická DNA byla získána z periferních lymfocytů. Bodové varianty se ověřovaly pomocí sangerovského sekvenování, CNV se ověřovaly pomocí kvantitativní polymerázové řetězové reakce (quantitative polymerase chain reaction – qPCR). Probandi a postižení příbuzní

poskytli informovaný souhlas s vyšetřením a podstoupili detailní klinické vyšetření, včetně MRI a EEG.

V prezentované studii jsme shromáždili 73 doposud nepublikovaných probandů se vzácnými variantami v genech *DEPDC5*, *NPRL2*, *NPRL3* díky mezinárodní spolupráci center pro epilepsii. U 55% probandů se jednalo o familiární výskyt epilepsie. Věk rozvoje záchvatů se pohyboval od prvních dnů života po 16 let (průměrně 4,4 roky). U 30% pacientů (22/73) došlo k rozvoji epilepsie v prvním roce života; 68% mělo fokální záchvaty (15/22), 27% trpělo infantilními spasmy (6/22) a jeden pacient měl kombinaci fokálních a generalizovaných záchvatů. Stran semiologie záchvatů, 36% (26/73) probandů trpělo hypermotorickými záchvaty vázanými na spánek, 16% (12/73) frontálními záchvaty, 32% (23/73) fokálními záchvaty s nejasným začátkem a 10% infantilními spasmy. U 48% (35/73) pacientů se přednostně vyskytovaly noční záchvaty. Věk sledovaných pacientů se nacházel v rozmezí od 8 měsíců až dvou let až do 58 let (67 probandů bylo sledováno déle než dva roky). Rezistence k farmakologické léčbě se objevila u 54% probandů (38/71) a u téměř 65% pacientů trpících epilepsií s nočními hypermotorickými záchvaty (sleep-related hypermotor epilepsy – SHE). Pouze 11% probandů dosáhlo stavu bez záchvatů po podání prvního antiepileptika; průměrně byly vyzkoušeny 4 antiepileptické léky. Neurozobrazovací metody, včetně MRI a FDG-PET odhalily abnormality u 38% probandů (27/71), z nichž u 24% (17/71) z nich se jednalo o malformace kortikálního vývoje. U 20% (14/71) byl nález hodnocen jako FCD, u jednoho pacienta šlo o hemisferální dysplázii, u jednoho o hemimegalencefalii a u jednoho fokální subkortikální heterotopie. Další čtyři probandi vykazovali známky hipokampální atrofie/sklerózy a další čtyři měli nespecifické změny na MRI. FDG-PET ukázalo známky fokálního hypometabolismu s normálním MRI, jako možný projev FCD, u dalších dvou pacientů. Resekční epileptochirurgie proběhla u 11 pacientů, včetně 2 s normálním nálezem na MRI a u 9 s MRI nálezem evokujícím FCD (8 pacientů) anebo hemimegalencefalii (1 pacient). Šedesát procent pacientů bylo po operaci bez záchvatů (Engel I skóre po dobu sledování 9 měsíců až 5 let); 20% (2/10) bylo téměř bez záchvatů (Engel II skóre po dobu sledování 10 až 15 měsíců); 1 dosáhl významného zlepšení (Engel III skóre po dobu sledování 7 let) a jeden pacient nedosáhl významného zlepšení (Engel IV skóre po dobu sledování 7 let). Šedesát procent probandů trpělo kognitivním deficitem anebo jinou psychiatrickou komorbiditou; toto číslo bylo vyšší u pacientů s rozvojem před prvním rokem věku (76%; 16/21). Kognitivní deficit byl pozorován u 44% (30/68) probandů; u 20% (14/68) šlo o mírný

nebo středně těžký kognitivní deficit, u 6% (4/68) o těžký kognitivní deficit. Patnáct procent (10/68) pacientů trpělo opožděným vývojem řeči a 9% (7/68) jinými kognitivními poruchami. Ve skupině pacientů s rozvojem záchvatů před prvním rokem věku, 20% (4/19) pacientů vykazovalo známky hlubokého kognitivního deficitu nebo celkové opoždění psychomotorického vývoje, 8 mělo mírný nebo střední kognitivní deficit a 7 pacientů vykazovalo normální kognitivní funkce. Doposud bylo popsáno 140 různých variant GATOR1 u 183 probandů s epilepsií. Většina variant jsou „loss of function“ (LoF; 67%), dále „missense“ (27%), sestříhové varianty (4%) a „in-frame indels“ (1%). Rekurentní GATOR1 patogenní LoF varianty ( $n=24$ ) byly nalezeny u nepříbuzných jedinců, což může svědčit o přítomnosti mutačních „hot spot-ů“ anebo o efektu zakladatele. Z genů komplexu GATOR1 byl nejčastěji mutován gen *DEPDC5* (v 85% případů; 155/183).

Souhrnem konstatujeme, že tato studie prokazuje, že geny komplexu GATOR1, zejména gen *DEPDC5*, se významně podílí na patogenezí širokého spektra lezionálních i nelezionálních epilepsií s konzistentními, ač variabilními, fenotypy. Na molekulární úrovni vede haploinsuficience GATOR1 k hyperaktivaci mTORC1 kaskády (Sim et al. 2016; Weckhuysen, et al. 2016), ale jak přesně se tím mění funkce zapojených neuronálních sítí, vývoj neuronů a v konečném důsledku dochází k rozvoji záchvatů, se zatím neví. Navzdory vysokému procentu pacientů s farmakorezistentní epilepsií, někteří mohou dosáhnout stavu bez záchvatů díky epileptochirurgii.

#### **Studie č. 5: Korelace genotypu a fenotypu u fokálních malformací kortikálního vývoje – cesta k integrované diagnóze v patologii u pacientů podstupujících epileptochirurgii**

Malformace kortikálního vývoje (malformations of cortical development – MCD) se často pojí s farmakorezistentní epilepsií již v prvních letech života, která vede k indikaci chirurgické léčby epilepsie (Harvey, et al. 2008) s potenciálem k významnému snížení frekvence záchvatů, dokonce k jejich vymizení. Proporce pacientů s MCD dosahujících stavu bez záchvatů se ale v průběhu let významně nemění, a to i v uznávaných centrech pro epileptochirurgii (Hemb et al. 2010; Lamberink, et al. 2015). Nedávná multicentrická studie (Blumcke, et al. 2017) sledující podíl jednotlivých histopatologických diagnóz a operační výsledky u pacientů podstupujících epileptochirurgii ukázala, že pouze 57% pacientů s MCD bylo bez záchvatů rok po operaci. Zatímco u mozkových nádorů představují molekulárně-genetické metody klíč k diagnóze a prognóze (Louis et al. 2016), v patologické diagnostice u MCD se zatím

standardně nevyužívají. Znalosti o tom, jak molekulárně-genetické vlastnosti MCD mohou ovlivňovat prognózu pacientů podstupujících epileptochirurgii, jsou vesměs rozptýlené v literatuře, soustředěné do jednotlivých kasuistik nebo malých patientských souborů. Zároveň nám chybí informace o tom, jak změny na molekulární úrovni vedou k buněčným a tkáňovým změnám – tyto znalosti by mohly významně ovlivnit neuropatologickou diagnostiku u pacientů s MCD. Cílem této souhrnné studie bylo soustředit informace z publikovaných studií o genetických příčinách a histopatologických změnách u MCD a tím nabídnout ucelený pohled na tuto problematiku a zároveň nabídnout nástroj, který by mohl sloužit klinickým neurologům, epileptologům a neuropatologům v epileptochirurgických centrech v klinické praxi i výzkumu.

Ze zmiňovaných studií vyplývá, že MCD s podobným histopatologickým obrazem mohou mít odlišné genetické příčiny. Ačkoliv se uvedené geny většinou soustředí do signální kaskády *PI3K/AKT/mTOR*, zatím se neprokázal přesný mechanismus vzniku tak širokého spektra buněčných a tkáňových změn, jaké pozorujeme u jednotlivých typů MCD. Tato nedokonalá korelace mezi genotypem a histologickým obrazem poukazuje na potenciální zapojení dalších genetických a epigenetických faktorů podílejících se na vzniku MCD. Současně tím podtrhuje důležitost integrované genetické a histopatologické diagnózy u pacientů podstupujících epileptochirurgii pro MCD analogicky standardu neuropatologického diagnostického procesu u mozkových nádorů (WHO/Haarlem kritéria) (Louis et al. 2014; Louis, et al. 2016).

Výsledky molekulárně-genetických vyšetření, společně s detailním popisem klinického průběhu onemocnění a též výsledků neurozobrazovacích a elektrofyziologických vyšetřovacích metod získané z velkých souborů pacientů, by do budoucna mohly přinést přesnější odhad prognózy epileptochirurgie. Upřesnění prognózy by tak mohlo vést k lepší stratifikaci a následnému plánování operace a dalšího klinického postupu u kandidátů epileptochirurgie.

### **Studie č. 6: Klinické využití masivně paralelního sekvenování u pacientů s malformacemi kortikálního vývoje. Pilotní studie**

Genetické testování germinálních variant nelimituje, na rozdíl od testování somatických variant, tak významná technická, metodická a interpretační náročnost. Proto jsme v našem centru zavedli genetické testování pacientů s MCD a epilepsií a na prvním souboru 16

pacientů testovali (1) zastoupení jednotlivých genů v patogenezi MCD na našem souboru a též (2) diagnostickou výtěžnost masivně paralelního sekvenování u pacientů s MCD.

Vytvořili jsme panel 63 genů asociovaných s různými typy MCD a sekvenovali DNA ze vzorků krve u 16 pacientů z 14 nepříbuzných rodin (ve dvou případech se jednalo o pár – postižené dítě a postižený rodič). Suspektní varianty byly ověřovány Sangerovským sekvenováním a následní segregací analýzou trií pacient-rodice. Nalezené varianty jsme klasifikovali dle doporučení American Society for Medical Genetics and Genomics (Richards et al. 2015) s použitím nástrojů SIFT, PolyPhen a M-CAP k *in silico* predikci patogenicity variant.

V našem souboru 4 pacienti trpěli rozsáhlou/komplexní kortikální dysplázií, 4 FCD, 3 pacienti měli fenotyp hemimegalencefalie, 2 pachygyrie, 1 pacientka měla specifický obraz tzv. double cortex-u a dva postižení rodiče trpěli jeden fokální a jedna generalizovanou epilepsií. Šest ze zmiňovaných pacientů podstoupilo epileptochirurgii s histopatologickým průkazem jejich diagnózy. U pěti pacientů ze 4 nepříbuzných rodin (4/14=29%) jsme našli 1 patogenní variantu a 3 velmi pravděpodobně patogenní varianty objasňující jejich fenotyp a několik variant nejasného významu. U pacientky s FCD IIa a jejího postiženého otce jsme našli popsanou variantu v genu *NPRL2*(NM\_006545.4:c.100C>T):p.Arg34\*. Doposud nepopsané varianty v genech *PAFAH1B1* (NM\_000430.3:c.232G>T): p.Glu78\* a *DCX* (NM\_000555.3:c.503T>G): p.Leu168Arg byly pozorovány u pacientů s pachygyrií a fenotypem double cortex. U dalšího pacienta s pachygyrií jsme našli variantu v genu *DYNC1H1*(NM\_001376.4:c.10030C>T): p.Arg3344Trp. V těchto případech usuzujeme, že se jedná o velmi pravděpodobnou příčinu onemocnění. Nalezli jsme též variantu nejasného významu v genu *NPRL3*(ENST00000399953.3:c.275G>A): p.Arg92Gln u pacientky s hemimegalencefalií (v heterozygotním stavu). Tato varianta je v databázi HGMD (Human Gene Mutation Database) označena jako patogenní, my jsme ji ale prokázali též u zdravé matky (v heterozygotním stavu). Pacientky s variantami v genech *NPRL2* a *NPRL3* jsme konzultovali v rámci mezinárodní studie s Dr. Stéphanie Baulac a první pacientka společně s jejím postiženým otcem byli zařazeni do zmiňované studie (Studie č. 4).

## 7. ZÁVĚRY

Prvním cílem předkládané práce bylo stanovit prediktory rozvoje opoždění psychomotorického vývoje a poruch autistického spektra ve skupině pacientů s TSC jako příkladu vývojové a epileptické encefalopatie. Naší hypotézou bylo, že rozvoj kognitivního deficitu a ASD souvisí s těžkou farmakorezistentní epilepsií. V studii č. 1 jsme prokázali, že jak farmakorezistentní epilepsie, charakterizovaná vysokým počtem antiepileptik, tak její anatomický podklad v podobě dysplastických ložisek typických pro TSC a FCD a doprovodné zpomalení základní aktivity na EEG, se významně pojí s nepříznivým kognitivním vývojem u pacientů s TSC. Dále jsme se detailně soustředili na neurovizuální charakteristiky FCD a ve studii ve spolupráci s londýnským pracovištěm jsme shrnuli jak známé MRI rysy FCD, tak úvahy nad možnostmi pokročilých počítačových algoritmů detekovat *in vivo* jednotlivé histologické podtypy FCD. Vzhledem k faktu, že pacienti s TSC a FCD tvoří významný podíl pacientů podstupujících epileptochirurgii, dali jsme si za další cíl stanovení faktorů, které ovlivňují kognitivní výkon u dětských kandidátů epileptochirurgie napříč etiologickým spektrem. V naší hypotéze jsme předpokládali, že (1) známky těžké epilepsie predikují horší kognitivní výkon a (2) epileptochirurgie vede k vzestupu pooperačního IQ/DQ oproti předoperačnímu. Ve studii č. 3 se ukázalo, že jak věk při rozvoji epilepsie, tak věk při operaci ovlivňují IQ/DQ, ale též, že významnou roli sehrává histologický typ FCD a rozsah operace (potažmo rozsah předpokládané epileptogenní zóny). Pacienti, kteří podstoupili epileptochirurgii (na skupinové úrovni) dosahovali vyššího IQ/DQ rok od operace než před operací a největší posun byl zaznamenán u pacientů s nižším vstupním IQ/DQ. Jelikož v průběhu času přibývají znalosti o genetických příčinách FCD, MCD a s nimi spojenou farmakorezistentní epilepsií a kognitivní dysfunkcí, rozhodli jsme se cíle dizertační práce rozšířit o zkoumání těchto genetických aspektů FCD/MCD. Naší, literárně podloženou, hypotézou bylo, že se geny signální kaskády mTOR podílejí na vzniku fokálních MCD a FCD. Tato hypotéza se potvrdila jednak na základě detailního a rozsáhlého studia dosavadních publikovaných údajů (Studie č. 5), tak v našem vlastním sledovaném souboru, kterým jsme přispěli do mezinárodní publikace pacientů s variantami v komplexu GATOR1 (Studie č. 4). V budoucnu by studie na větším souboru pacientů s dostupnými klinickými, elektrofyziologickými, neuropsychologickými, neurovizuálními a genetickými informacemi mohly osvětlit podíl genetických změn na prognóze a kognitivním vývoji pacientů podstupujících epileptochirurgii.

## 8. POUŽITÁ LITERATURA

- BALDASSARI, S., L. LICCHETTA, P. TINUPER, F. BISULLI, et al. GATORI complex: the common genetic actor in focal epilepsies. *Journal of Medical Genetics*, 2016, 53(8).
- BARKOVICH, A. J., R. GUERRINI, R. I. KUZNIECKY AND G. D. JACKSON A developmental and genetic classification for malformations of cortical development: update 2012. *Brain*, 2012.
- BAUD, M. O., T. PERNEGER, A. RACZ, M. C. PENSEL, et al. European trends in epilepsy surgery. *Neurology*, Jul 10 2018, 91(2), e96-e106.
- BAULAC, S., S. ISHIDA, E. MARSAN, C. MIQUEL, et al. Familial focal epilepsy with focal cortical dysplasia due to DEPDC5 mutations. *Annals of neurology*, 2015, 77(4), 675-683.
- BERG, A. T., S. F. BERKOVIC, M. J. BRODIE, J. BUCHHALTER, et al. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. *Epilepsia*, Apr 2010, 51(4), 676-685.
- BLUMCKE, I., R. SPREAFICO, G. HAAKER, R. CORAS, et al. Histopathological Findings in Brain Tissue Obtained during Epilepsy Surgery. *N Engl J Med*, Oct 26 2017, 377(17), 1648-1656.
- BOONYAPISIT, K., I. NAJM, G. KLEM, Z. YING, et al. Epileptogenicity of focal malformations due to abnormal cortical development: direct electrocorticographic-histopathologic correlations. *Epilepsia*, Jan 2003, 44(1), 69-76.
- BOSHUISEN, K., M. M. VAN SCHOONEVELD, C. S. UITERWAAL, J. H. CROSS, et al. Intelligence quotient improves after antiepileptic drug withdrawal following pediatric epilepsy surgery. *Ann Neurol*, Jul 2015, 78(1), 104-114.
- BRAUN, K. P. J. AND J. H. CROSS Pediatric epilepsy surgery: the earlier the better. *Expert Rev Neurother*, Apr 2018, 18(4), 261-263.
- CHEN, J., V. TSAI, W. E. PARKER, E. ARONICA, et al. Detection of human papillomavirus in human focal cortical dysplasia type IIB. *Ann Neurol*, Dec 2012, 72(6), 881-892.
- CHU-SHORE, C. J., P. MAJOR, S. CAMPOSANO, D. MUZYKEWICZ, et al. The natural history of epilepsy in tuberous sclerosis complex. *Epilepsia*, 2010, 51(7), 1236-1241.
- CURATOLO, P., E. ARONICA, A. JANSEN, F. JANSEN, et al. Early onset epileptic encephalopathy or genetically determined encephalopathy with early onset epilepsy? Lessons learned from TSC. *European journal of paediatric neurology : EJPN : official journal of the European Paediatric Neurology Society*, 2016, 20(2), 203-211.
- CURATOLO, P., M. C. PORFIRIO, B. MANZI AND S. SERI Autism in tuberous sclerosis. *European journal of paediatric neurology : EJPN : official journal of the European Paediatric Neurology Society*, 2004, 8(6), 327-332.
- D'GAMA, A. M., Y. GENG, J. A. COUTO, B. MARTIN, et al. Mammalian target of rapamycin pathway mutations cause hemimegalencephaly and focal cortical dysplasia. *Ann Neurol*, Apr 2015, 77(4), 720-725.
- D'GAMA, A. M., M. B. WOODWORTH, A. A. HOSSAIN, S. BIZZOTTO, et al. Somatic Mutations Activating the mTOR Pathway in Dorsal Telencephalic Progenitors Cause a Continuum of Cortical Dysplasias. *Cell Rep*, Dec 26 2017, 21(13), 3754-3766.
- FISHER, R. S., C. ACEVEDO, A. ARZIMANOGLU, A. BOGACZ, et al. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*, Apr 2014, 55(4), 475-482.
- GUERRINI, R. AND W. B. DOBYNS Malformations of cortical development: clinical features and genetic causes. *The Lancet Neurology*, 2014, 13(7), 710-726.
- HARVEY, A. S., J. H. CROSS, S. SHINNAR, G. W. MATHERN, et al. Defining the spectrum of international practice in pediatric epilepsy surgery patients. *Epilepsia*, Jan 2008, 49(1), 146-155.
- HEMB, M., T. R. VELASCO, M. S. PARNES, J. Y. WU, et al. Improved outcomes in pediatric epilepsy surgery: the UCLA experience, 1986-2008. *Neurology*, Jun 01 2010, 74(22), 1768-1775.
- HIBAR, D. P., J. L. STEIN, M. E. RENTERIA, A. ARIAS-VASQUEZ, et al. Common genetic variants influence human subcortical brain structures. *Nature*, Apr 9 2015, 520(7546), 224-229.
- JOINSON, C., F. J. O'CALLAGHAN, J. P. OSBORNE, C. MARTYN, et al. Learning disability and epilepsy in an epidemiological sample of individuals with tuberous sclerosis complex. *Psychol Med*, Feb 2003, 33(2), 335-344.
- JÓŹWIAK, S., K. KOTULSKA, D. DOMAŃSKA-PAKIEŁA, B. ŁOJSZCZYK, et al. Antiepileptic treatment before the onset of seizures reduces epilepsy severity and risk of mental retardation in infants with tuberous sclerosis complex. *European Journal of Paediatric Neurology*, 2011, 15(5).
- KIMURA, N., Y. TAKAHASHI, H. SHIGEMATSU, K. IMAI, et al. Risk factors of cognitive impairment in pediatric epilepsy patients with focal cortical dysplasia. *Brain Dev*, Jul 31 2018.
- KRSEK, P., A. JAHODOVA, M. KYNCL, M. KUDR, et al. Predictors of seizure-free outcome after epilepsy surgery for pediatric tuberous sclerosis complex. *Epilepsia*, Nov 2013, 54(11), 1913-1921.
- KRSEK, P., A. JAHODOVA, B. MATON, P. JAYAKAR, et al. Low-grade focal cortical dysplasia is associated with prenatal and perinatal brain injury. *Epilepsia*, Dec 2010, 51(12), 2440-2448.
- LAMBERINK, H. J., K. BOSHUISEN, P. C. VAN RIJEN, P. H. GOSSELAAR, et al. Changing profiles of pediatric epilepsy surgery candidates over time: A nationwide single-center experience from 1990 to 2011. *Epilepsia*, May 2015, 56(5), 717-725.
- LEVENTER, R. J., F. E. JANSEN, S. A. MANDELSTAM, A. HO, et al. Is focal cortical dysplasia sporadic? Family evidence for genetic susceptibility. *Epilepsia*, Mar 2014, 55(3), e22-26.
- LIM, J. S., R. GOPALAPPA, S. H. KIM, S. RAMAKRISHNA, et al. Somatic Mutations in TSC1 and TSC2 Cause Focal Cortical Dysplasia. *Am J Hum Genet*, Mar 02 2017, 100(3), 454-472.

LOUIS, D. N., A. PERRY, P. BURGER, D. W. ELLISON, et al. International Society Of Neuropathology--Haarlem consensus guidelines for nervous system tumor classification and grading. *Brain Pathol*, Sep 2014, 24(5), 429-435.

LOUIS, D. N., A. PERRY, G. REIFENBERGER, A. VON DEIMLING, et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol*, Jun 2016, 131(6), 803-820.

MUHLEBNER, A., R. CORAS, K. KOBOW, M. FEUCHT, et al. Neuropathologic measurements in focal cortical dysplasias: validation of the ILAE 2011 classification system and diagnostic implications for MRI. *Acta Neuropathol*, Feb 2012, 123(2), 259-272.

NORTHROP, H., D. A. KRUEGER AND G. INTERNATIONAL TUBEROUS SCLEROSIS COMPLEX CONSENSUS  
Tuberous sclerosis complex diagnostic criteria update: recommendations of the 2012 International Tuberous Sclerosis Complex Consensus Conference. *Pediatr Neurol*, Oct 2013, 49(4), 243-254.

PEPER, J. S., R. M. BROUWER, D. I. BOOMSMA, R. S. KAHN, et al. Genetic influences on human brain structure: a review of brain imaging studies in twins. *Hum Brain Mapp*, Jun 2007, 28(6), 464-473.

RICHARDS, S., N. AZIZ, S. BALE, D. BICK, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*, May 2015, 17(5), 405-424.

RYVLIN, P., J. H. CROSS AND S. RHEIMS Epilepsy surgery in children and adults. *Lancet Neurol*, Nov 2014, 13(11), 1114-1126.

SCHEFFER, I. E., S. BERKOVIC, G. CAPOVILLA, M. B. CONNOLLY, et al. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*, Mar 08 2017.

SIM, J. C., T. SCERRI, M. FANJUL-FERNANDEZ, J. R. RISELEY, et al. Familial cortical dysplasia caused by mutation in the mammalian target of rapamycin regulator NPRL3. *Ann Neurol*, Jan 2016, 79(1), 132-137.

TELLEZ-ZENTENO, J. F., L. HERNANDEZ RONQUILLO, F. MOIEN-AFSHARI AND S. WIEBE Surgical outcomes in lesional and non-lesional epilepsy: a systematic review and meta-analysis. *Epilepsy Res*, May 2010, 89(2-3), 310-318.

TEUTONICO, F., R. MAI, O. DEVINSKY, L. G. RUSSO, et al. Epilepsy surgery in tuberous sclerosis complex: early predictive elements and outcome. *Child's Nervous System*, 2008, 24(12), 1437-1445.

VAN SCHOONEVELD, M. M. AND K. P. BRAUN Cognitive outcome after epilepsy surgery in children. *Brain Dev*, Sep 2013, 35(8), 721-729.

WECKHUYSEN, S., E. MARSAN, V. LAMBRECQ, C. MARCHAL, et al. Involvement of GATOR complex genes in familial focal epilepsies and focal cortical dysplasia. *Epilepsia*, 2016, 57(6), 994-1003.

WHELAN, C. D., S. ALHUSAINI, E. O'HANLON, M. CHEUNG, et al. White matter alterations in patients with MRI-negative temporal lobe epilepsy and their asymptomatic siblings. *Epilepsia*, Oct 2015, 56(10), 1551-1561.

## 9. SEZNAM PUBLIKACÍ AUTORKY

Publikace v časopisech s IF *in extenso*, které jsou podkladem dizertace:

- ADLER, S., S. LORIO, T. S. JACQUES, B. BENOVA, et al. Towards in vivo focal cortical dysplasia phenotyping using quantitative MRI. *Neuroimage Clin*, 2017, 15, 95-105. **IF: 3.869**
- BALDASSARI, S., F. PICARD, N. E. VERBEEK, M. VAN KEMPEN, et al. The landscape of epilepsy-related GATOR1 variants. *Genet Med*, Aug 10 2018. **IF: 9.937**
- BENOVA, B., B. PETRAK, M. KYNCL, P. JEZDIK, et al. Early predictors of clinical and mental outcome in tuberous sclerosis complex: A prospective study. *Eur J Paediatr Neurol*, Mar 15 2018. **IF: 2.362**
- BENOVA, B. AND T. S. JACQUES Genotype-phenotype correlations in focal malformations of cortical development: a pathway to integrated pathological diagnosis in epilepsy surgery. *Brain Pathology*, 0(ja). **IF: 6.624**
- BENOVA B., BELOHLAVKOVA A., JEZDIK P., JAHODOVA A., et al. Cognitive performance in distinct groups of children undergoing epilepsy surgery – a single-centre experience. *Under review*.

Publikace v časopisech s IF *in extenso*, které nejsou podkladem dizertace:

- BENOVA, B., P. KRSEK, Z. SUMNIK, M. KUDR, et al. Initial manifestation of type I diabetes mellitus as an unusual cause of early post-operative seizures. *Epileptic Disord*, Jun 01 2016, 18(2), 211-215. **IF: 1.500**
- BRABCOVA, D., J. KOHOUT, D. POTUZAK, B. BENOVA, et al. Psychometric properties of the Czech version of the Stigma Scale of Epilepsy. *PLoS ONE*, 2018, 13(3), e0195225. **IF: 2.766**
- JANCA, R., P. JEZDIK, A. JAHODOVA, M. KUDR, et al. Intraoperative Thermography of the Electrical Stimulation Mapping: A safety control study. *IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering*, 2018. **IF: 3.972**
- MUHLEBNER, A., J. VAN SCHEPPINGEN, H. M. HULSHOF, T. SCHOLL, et al. Novel Histopathological Patterns in Cortical Tubers of Epilepsy Surgery Patients with Tuberous Sclerosis Complex. *PLoS ONE*, 2016, 11(6), e0157396. **IF: 2.766**