

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta
Katedra fyziologie živočichů

Důsledky hypertermie na nezralý mozek
Bakalářská práce



Autor: Robert Starý

Vedoucí práce: Doc. PharmDr. Hana Kubová, DrSc., Oddělení vývojové epileptologie, Fyziologický ústav AVČR

Datum: srpen 2010

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem předloženou práci vypracoval samostatně, že jsem uvedl veškerou použitou literaturu a že předložená tištěná verze bakalářské práce je totožná s elektronickou verzí vloženou do SIS.

Praha, 9. 8. 2010

.....
Robert Starý, v.r.

Poděkování

Rád bych poděkoval vedoucí mé bakalářské práce Doc. PharmDr. Haně Kubové, DSc. za trpělivost a ochotu, se kterými mi pomáhala vytvářet toto dílo. Můj srdečný dík patří rovněž osazenstvu naší laboratoře za příjemné pracovní prostředí.

Další osobou, které bych rád vyjádřil své díky, je kolega Mgr. Grygoriy Tsenov, PhD., který svými cennými připomínkami a radami rovněž přispěl k vytvoření této práce.

Abstrakt

V této práci jsou nejprve vysvětleny základní pojmy z oboru epileptologie a je poukázáno na problematiku experimentálních studií. Zbytek práce je poté věnován febrilním záchvatům, jejich vzniku, rozvoji a vlivu na organismus. Srovnání záchvatů spojených se zvýšenou tělesnou teplotou a ostatních experimentálně používaných modelů je zařazeno na závěr práce.

Abstract

In this work basic concepts of epileptology are explained first. Next the issue of experimental study is pointed out. The rest of the work is then devoted to febrile seizures, their generation, spread and effect on the organism. Confrontation of seizures associated with increased body temperature and other experimental models are placed at the end.

Klíčová slova

Typy záchvatů; podmínky experimentů; modely epilepsie; epileptogeneze; febrilní křeče; hypertermie; behaviorální důsledky.

Keywords

Types of seizures; conditions of experiments; models of epilepsy; epileptogenesis; febrile seizures; hyperthermie; behavioral outcomes.

Obsah

Seznam zkratek.....	1
Úvod.....	2
Typy záchvatů.....	3
Rizika a výhody experimentů.....	6
Epileptická aktivita a nezralý mozek.....	7
Modely epilepsie.....	8
Epileptogeneze.....	9
Febrilní křeče – definice a incidence.....	10
Febrilní záchvaty vs. epilepsie.....	11
Typy febrilních křečí.....	12
Hyperthermie.....	12
Rizikové faktory vzniku febrilních záchvatů.....	14
Opakované febrilní záchvaty.....	15
Role prolongovaných febrilních záchvatů (PFS) v epileptogenezi.....	16
Důsledky SE pro nezralý mozek.....	17
Behaviorální důsledky epileptického statu.....	19
Závěr.....	21
Literatura.....	22

Seznam zkratek

CNS	⇒	centrální nervový systém
Px	⇒	<i>postnatal</i> , číslo x vyjadřuje počet dnů od narození
FS	⇒	<i>febrile seizure</i> , febrilní záchvat
PFS	⇒	<i>prolonged febrile seizure</i> , prolongovaný febrilní záchvat
SE	⇒	<i>status epilepticus</i> , epileptický status
FSE	⇒	<i>febrile status epilepticus</i> , febrilní epileptický status
TLE	⇒	<i>temporal lobe epilepsy</i> , epilepsie spánkového laloku
MTS	⇒	<i>mesial temporal sclerosis</i> , neurodegenerace středního spánkového laloku
HEB	⇒	hematoencefalická bariéra
DG	⇒	<i>dentate gyrus</i> , struktura mediálního spánkového laloku
CA	⇒	<i>cornu ammonis</i> , oblast hipokampu
NPY	⇒	neuropeptid Y
CRH	⇒	<i>corticotropin releasing hormone</i> , kortikotropin uvolňující hormon
Pi	⇒	pilokarpin
Li-Pi	⇒	lithium-pilokarpin
MRI	⇒	<i>magnetic resonance imaging</i> , neinvazivní zobrazovací metoda
EEG	⇒	elektroencefalograf, přístroj zaznamenávající elektrickou aktivitu mozku
ILAE	⇒	<i>International League Against Epilepsy</i> , Mezinárodní liga proti epilepsii (www.ilae-epilepsy.org)
NIH	⇒	<i>The National Institutes of Health</i> , Národní institut zdraví (www.nih.gov)

Úvod

Epilepsie je jedním z nejčastějších neurologických onemocnění. Jako epilepsie je označován soubor syndromů vyznačujících se opakovaným výskytem epileptických záchvatů, které jsou definovány jako náhle vznikající porucha činnosti mozku, charakterizovaná změnou elektrické aktivity mozku, která může být doprovázena příznaky motorickými, senzorickými, vegetativními, poruchami vědomí a chování.

Epileptický záchvat může být vyprovokován celou řadou faktorů, jako je masivní elektrická stimulace, působení křečových jedů, změna vnitřního prostředí. Teoreticky kterýkoliv z neuronů nebo neuronálních okruhů může v důsledku působení výše uvedených faktorů produkovat akutní epileptiformní aktivitu. Epilepsie je naproti tomu chronické onemocnění, při kterém dochází bez zjevné příčiny k tvorbě epileptických záchvatů. Výskyt izolovaného epileptického záchvatu neznamena tedy nutně epilepsii (Kubová, 2002).

U zhruba 50 % pacientů začíná epilepsie v dětském či školním věku a pokračuje pak po zbytek života (Sander a Silanpää, 1997). Nejvyšší incidence prvního epileptického záchvatu, který je projevem onemocnění epilepsií, je během prvních let života člověka. Větší náchylnost k produkci epileptických záchvatů je dána převahou excitace, typickou pro nezralý mozek. Další zvýšení výskytu nově diagnostikovaných epilepsií je popisované po 65 roce života, tentokrát zejména symptomatických epilepsií, souvisejících s vaskulárními poruchami, neurodegenerativními změnami či mozkovými nádory.

Výskyt epilepsie je v rozvinutých zemích nižší, nežli v rozvojových a to především z důvodu horší zdravotní péče i výskytu chorob v západním světě prakticky neznámých (parazitální onemocnění, atd.). Čísla, která se v této souvislosti nejčastěji objevují, hovoří tedy o 5–8 jedincích s epilepsií na 1000 osob zdravé populace v západních zemích, u rozvojových zemí se odhaduje až 50/1000. Je však třeba zdůraznit, že se jedná pouze o samotnou epilepsii, definovanou jako výskyt neprovokovaných, spontánních záchvatů, jejichž vznik nelze předvídat (Dubé, 2007). Větší množství populace je zasaženo jednotlivými záchvaty, které vznikají v důsledku jiných patologií (diabetes, metabolické poruchy, záněty mozku, atd.) nebo otrav, či lékových závislostí. Ve většině případů je spouštěcí faktor nejasný a proto je určení incidence těchto záchvatů ještě mnohem problematictější. V mnoha případech si totiž nemusí být zasažený jedinec vědom, že záchvat prodělal.

Zvláštním případem jsou febrilní křeče. Jedná se o jeden z nejběžnějších typů dětského epileptického záchvatu, jejichž výskyt je spojen s horečnatým onemocněním. Febrilní záchvaty se často spojují se vznikem epilepsie mediálního spánkového laloku a hipokampální sklerosou.

Zůstává ovšem nedořešena otázka příčiny a následku. Předchází vzniku záchvatové činnosti neuronů strukturální poškození mozku, nebo je epileptiformní aktivita původcem takových abnormalit? Velkým přínosem pro tuto oblast výzkumu byl rozvoj neinvazivních zobrazovacích technik, díky nimž je možné s minimálním rizikem získat podrobné strukturní informace. Pro zhodnocení významu nálezů je ovšem nezbytné spojení těchto strukturálních dat, výsledků populačních studií, jak retrospektivních, tak prospektivních, a rovněž studií genetických.

Humánní studie však mají značná omezení, vyplývající především z přítomnosti dalších patologií, velké variability sledovaných souborů a nezbytnosti dlouhé sledovací doby pro získání výsledků. Problémy přinášejí i hlediska etická (nezbytnost hledat co nejúčinnější léčbu, etická omezení v použití diagnostických metod, ap.). Některé z těchto problémů lze obejít použitím vhodných animálních modelů. Vhodný a zejména relevantní experimentální model by měl umožňovat studium významu jednotlivých mechanismů, uplatňujících se ve vzniku, rozvoji a prognóze epileptických záchvatů a epilepsie, vyhledávání rizikových faktorů či biomarkeru epileptogeneze, tedy procesu, vedoucímu ke vzniku epilepsie jako chronického onemocnění, a možností tento proces včas diagnostikovat. Tyto modely musí velmi věrně odpovídat lidským formám epilepsií a jejich relevance musí být co nejpřesněji prokázána (Kubová, 2002). Je tedy nutné najít nejen vhodné pokusné modely, ale také spolehlivě převést experimentální data na poznatky použitelné v klinické praxi. Modely musejí být velmi přesně charakterizovány nejen z hlediska záchvatové sémiologie, ale i z hlediska dopadu jednotlivých typů záchvatů či epilepsií na další vývoj jedince a integritu jeho mozkových funkcí.

Cílem této práce by mělo být shrnutí podstatných experimentálních a klinických faktů z oboru vývojové epileptologie, se zaměřením na modely febrilních záchvatů a jejich klinickou relevanci.

Typy záchvatů

Jak bylo krátce zmíněno v úvodu, epileptický záchvat se v chování jedince může projevit nejrůznějším způsobem. Použití standardizovaného popisu a jednotného názvosloví je základem pro přesnou diagnostiku, která umožní co nejúčinnější léčbu. Dále uvádím přehled základního členění podle Mezinárodní ligy proti epilepsii (www.ilae-epilepsy.org).

Generalizované záchvaty (*generalized seizures*)

- Tonicko-klonické záchvaty (*tonic-clonic seizures*)
- Klonické záchvaty (*clonic seizures*)
 - bez tonických znaků
 - s tonickými znaky

- Typické absence (*typical absence seizures*)
- Atypické absence (*atypical absence seizures*)
- Myoklonické absence (*myoclonic absence seizures*)
- Tonické záchvaty (*tonic seizures*)
- Spasmy (*spasms*)
- Myoklonické záchvaty (*myoclonic seizures*)
- Myoklonie očních víček (*eyelid myoclonia*)
 - bez absencí
 - s absencemi
- Myoklonické atonické záchvaty (*myoclonic atonic seizures*)
- Negativní myoklonus
- Atonické záchvaty (*atonic seizures*)
- Reflexní záchvaty při generalizovaných epileptických syndromech

Fokální záchvaty (*focal seizures*)

- Fokální sensorické záchvaty (*focal sensory seizures*)
- Fokální motorické záchvaty (*focal motor seizures*)
- Reflexní záchvaty

U generalizovaných záchvatů se předpokládá celkové postižení mozku.

Absence (*absence seizures*) obvykle nejsou provázeny výraznějšími motorickými projevy, i když v některých případech lze pozorovat záškuby mimického svalstva či očních víček. Jedinec jako by se zastavil v čase, jeho schopnost vnímat i reagovat je zhoršena. Bezprostředně po ukončení záchvatu je jeho soustředění obnoveno a dotyčný pokračuje dál, aniž by si mnohdy sám uvědomoval, že se něco přihodilo. Absence postihují nejčastěji děti školního věku a obvykle nijak nenarušují vývoj jedince ani nesnižují jeho intelekt. V 70 % případů dochází k remisi do osmnáctého roku života.

Myoklonické záchvaty (*myoclonic seizures*) se projevují krátkými záškuby svalu nebo skupiny svalů. Tyto abnormální pohyby postihující obě strany těla ve stejný čas se vyskytují někdy samostatně, jindy nastávají v krátkém časovém odstupu po sobě. Přirovnat by se daly k záškubům končetin při usínání. Postihují nejčastěji obličejové svalstvo, krk, ramena a paže. Vyskytují se zpravidla u dětí, ale postihují všechny věkové skupiny.

Atonické záchvaty (*atonic seizures*) jejichž podstata vychází z poklesu svalového tonu (napětí). Mezi časté projevy patří pokles očních víček, sklonění hlavy, popřípadě, pokud jsou

zasazeny horní končetiny, padání předmětů. Obvykle se poprvé objevují v dětském věku, a jejich projevy často přetrvávají i v dospělosti.

Tonické záchvaty (*tonic seizures*) jsou vlastně opakem záchvatů atonických. Dochází při nich naopak ke zvýšení svalového tonu.

Klonické záchvaty (*clonic seizures*) se projevují oboustrannými rytmickými záškuby nohou a rukou, což je důsledek rychlých změn kontrakce a relaxace svalů.

Tonicko-klonické záchvaty (*tonic-clonic seizures*) jsou posledním typem generalizovaných záchvatů. Jedná se o kombinaci tonického záchvatu, který je po chvíli vystřídán záchvatem klonickým. Tonicko-klonické záchvaty, jinak také označovány *grand mal*, jsou ztvárněním představ většiny lidí o epileptickém záchvatu. Jsou provázeny ztrátou vědomí. Po ukončení záchvatu upadá osoba do bezvědomí, ze kterého se pozvolna probouzí zmatená a unavená.

Parciální záchvaty vznikají jako elektrické výboje v jedné ohraničené oblasti mozku a častokrát souvisejí s poraněním hlavy, ischemickými ataky, neuroinfekcí, nebo tumorem (Hauser, 1997), ale u většiny případů zůstává příčina neznámá. U některých jedinců může docházet k postupnému šíření epileptické aktivity do další oblasti mozku a k postupné generalizaci této aktivity. V takovém případě hovoříme o záchvatech sekundárně generalizovaných.

Jednoduché záchvaty (*simple seizures*) vycházejí z korových struktur a jejich projevy se liší v závislosti na oblasti, ze které vycházejí. Podle postižené oblasti může dojít nejčastěji k projevům motorickým (křeče určité svalové skupiny) či senzorickým (optické či akustické halucinace, pachuť v ústech, atd.) Osoby během záchvatů neztrácejí vědomí a jsou někdy schopny i komunikovat (samozřejmě obtížněji) se svým okolím. Jsou si vědomi, nadcházejícího záchvatu a často na něj upozorní a i po jeho ukončení vědí, co se stalo.

Při komplexních záchvatech (*complex seizures*) již dochází k porušení nebo úplné ztrátě vědomí. Tyto záchvaty vycházejí z limbických struktur a často začínají tzv. aurou, která může mít různé projevy v závislosti na mozkové oblasti, z níž záchvat vychází. V průběhu záchvatu dochází k poruchám vědomí, často se vyskytují automatismy (opakování zažitých pohybů, např. šlapání jako na kole). Během tohoto stavu nejsou lidé schopni komunikace se svým okolím, ztrácejí kontrolu nad pohyby i mluvením (pokud mluví, tak slova nedávají smysl) a zpětně si nevzpomínají, co se stalo.

Druhotně generalizované záchvaty (*secondarily generalized seizures*) začínají jako parciální záchvaty v určité oblasti mozku, následně se epileptická aktivita rozšíří a postihují obě hemisféry, čímž se stávají generalizovanými. V některých případech je velmi obtížné detekovat

parciální počátek záchvatu. Podle klinických dat tvoří tento typ celých 30 % všech parciálních záchvatů.

Dalším typem záchvatů, který se samostatně vyčleňuje z parciálních i generalizovaných typů je epileptický status (*status epilepticus*; *SE*). Jedná se o extrémní případ záchvatů dosahujících vyšší délky a označovaných jako prolongované záchvaty (*prolonged seizures*). Jsou definovány jako přítomnost abnormální aktivity neuronů trvající déle než 10–15 minut. Epileptický status je definován International League Against Epilepsy (ILAE) jako záchvat trvající minimálně 30 minut, nebo více než třiceti minutová, přerušovaná záchvatová aktivita, u níž, mezi jednotlivými příhodami, nedochází k návratu v plnou funkčnost organismu.

Rizika a výhody experimentů

Mnohé ze záchvatů lze studovat na zvířecích modelech, což pomáhá pochopit podstatu a možný mechanismus jejich vzniku i dopadu na CNS. Využití laboratorních zvířat (nejčastěji potkanů a myši) s sebou přináší určitá specifika. Laboratorní zvířata pocházejí z vyšlechtěných genetických linií, čímž se minimalizuje vliv genetických predispozic a stejně tak nejsou ovlivněna vnějším prostředím. To vše napomáhá k získání takových výsledků, které odpovídají pouze námi zvoleným podmínkám, a díky tomu jsme schopni lépe porozumět probíhajícím procesům. Je tak zajištěna větší homogenita srovnávaných skupin, než-li v případě klinických studií. Přenos výsledků na člověka ovšem musí vycházet z kritického srovnání použitých živočišných druhů a vždy musí být založen na vysoce objektivním přístupu k těmto studiím. Na druhé straně principy činnosti a regulace neuronu a neuronálních sítí jsou obecné a v řadě parametrů nejsou významné rozdíly mezi fungováním těchto sítí u člověka a hlodavců.

Složitější problém přinášejí vývojové studie, kdy si při srovnávání vývoje různých živočišných druhů musíme být vědomi značných rozdílů, které musejí být brány do úvahy při interpretaci výsledků experimentálních studií a především při přenosu výsledků do humánní situace. Rychlost vývoje hlodavců je nesrovnatelně vyšší než u primátů, což přináší značné výhody pro provádění vývojových studií s použitím hlodavčích modelů (úspora času). Na druhé straně však výrazně zvyšuje nároky na přesný výběr odpovídajícího stádia laboratorního hlodavce s ohledem na cíle dané studie (Kubová, 2002). Mládě potkana se rodí vysoce nezralé. Výsledky studií porovnávající vývoj lidského a zvířecích mozků, se odlišují v závislosti na použitých srovnávacích kritériích. Nejčastěji se však uvažuje, že úroveň vývoje mozku plně donošeného lidského novorozence je rovna 8–10 dní (Dobbing a Sands, 1979), případně 5–7 dní (Gottlieb a kol., 1977), starému potkanovi. Pevnou potravu přijímá zhruba od 15 dne věku (P15), již 28. den dochází k fyziologickému odstavu (Nováková, 1966) a okolo P35 začíná puberta.

Zralý nervový systém je charakterizován vysokou mírou funkční i strukturální organizace, která je výsledkem komplexních vývojových procesů, začínajících již v průběhu embryonálního vývoje. Vývoj CNS zahrnuje růst, diferenciaci a dozrávání buněk a jejich organizaci do funkčních celků, tvorbu synapsí i kvantitativní a kvalitativní změny jednotlivých transmitterových systémů, včetně přechodné neurotrofní funkce některých z nich (Meier a kol., 1991). Veškeré tyto vývojové změny pak vedou k postupnému dozrávání funkcí. Každá oblast mozku vykazuje specifickou rychlost růstu i časovou sekvenci dozrávání a dokonalá orchestrace těchto procesů je podmínkou normální funkce mozku (Kubová, 2002).

Epileptická aktivita a nezralý mozek

Jednou z klíčových otázek stále zůstává, jaké jsou dopady epileptické aktivity pro normální vývoj mozku a jeho funkcí. Poškozuje tato aktivita mozek, vede ke ztrátě neuronů či reorganizaci mozkových sítí? Wasterlain se spolupracovníky ve své práci z roku 2002 uvádějí, že novorozenci díky svému nízkému cerebrálnímu metabolismu a neucelené neurální síti, jsou schopni snést i relativně dlouhotrvající záchvat bez nějakého výraznějšího poškození, jako je masivní ztráta neuronů. Ovšem v pozdějším dětství roste metabolický obrat mozku, postupně dozrává neuronální a synaptická síť. V závislosti na věku se mění exprese, složení a tím i citlivost receptorů a enzymů účastnících se regulace neuronální excitability i excitotoxických mechanismů. Tím stoupá riziko dopadu intenzivní epileptické aktivity. Mnohé studie prokazují, že nezralý mozek produkuje epileptickou aktivitu snáze, než-li mozek dospělý. Navíc je nezralý mozek schopen produkovat mnohem širší spektrum epileptických záchvatů a syndromů. Epileptická aktivita je tedy znatelně variabilnější než u plně dospělých jedinců, o čemž svědčí i existence specifických věkově vázaných forem epileptických záchvatů i epilepsií (Aicardi a kol., 1997).

Jedním z důvodů pro vyšší excitabilitu nezralého mozku je posun v rovnováze mezi inhibicí a excitací v prospěch excitace. Děje se tak z důvodu stimulace většího počtu neuronů během postnatálního období, které má za úkol minimalizovat přirozenou apoptotickou selekci neuronů. Excitabilita mozku se však nemění v průběhu vývoje lineárně, o čemž svědčí existence tzv. vývojových oken spojených s vyšší odpovědí nezralého mozku na externí podnět (Mareš a kol., 1997).

Výskyt těchto „vývojových oken“ je závislý nejen na úrovni zralosti mozku, ale i na charakteru použitého stimulu. Použitím křečových jedů lze zkoumat celkové vlastnosti nervové tkáně, vznik záchvatů a jejich šíření, či hledat nové antikonvulsivní léky. Chemokonvulsanty mohou vyvolat různé typy epileptických záchvatů v závislosti na množství, způsobu podání

a jejich funkčním mechanismu. Ve většině případů je výsledný efekt též vysoce podmíněn věkem zvířat. Proto mohou být tyto látky použity pro studium postembryonálního vývoje určitých epileptických jevů, excitability CNS, nebo různých systémů podílejících se na vzniku záchvatů (receptory, metabolické dráhy, iontové kanály, atd.). Bylo například zjištěno, že nejvyšší citlivost ke křečím vyvolaným látkami, blokujícími GABAergní systém, se u potkanů vyskytuje kolem 3. týdne věku, zatímco citlivost k agonistům excitačních aminokyselin postupně klesá se stoupajícím věkem jedince (Kubová, 2009).

Dalším způsobem, jakým lze studovat vlastnosti mozku a experimentálně vyvolávat záchvaty je elektrická stimulace. Její velkou výhodou je, že k epileptogennímu vlivu dochází pouze v průběhu aplikace proudu a epileptická aktivita tak není dále touto stimulací ovlivňována. Na druhou stranu elektrický proud není tak selektivní jako chemokonvulsanty a stimuluje všechny buňky tkáně, ať neuronální či nonneuronální povahy. Elektricky stimulované záchvaty mohou být vyvolané celkovou, nebo lokální stimulací mozkových struktur. Výsledný efekt je závislý na stimulované struktuře, věku zvířete a v neposlední řadě také na síle použitého proudu (Mareš a Kubová, 2006).

Modely epilepsie

Pro studium epilepsie jako chronického onemocnění a především věkových specifí tohoto onemocnění se v současné době nejčastěji využívají modely epilepsie, vyvolané s použitím primárního inzultu, tzv. *acquired epilepsies*. Nejčastěji používaným inzultem je chemicky či elektricky vyvolaný status epilepticus (SE), který má vysokou epileptogenicitu, vede tedy ke vzniku spontánně se opakujících záchvatů u většiny přežívajících jedinců, vystavených tomuto inzultu.

Nejběžnějším modelem je model SE podáním pilokarpinu, nesespecifického agonisty muskarinových cholinerních receptorů, a to buď samostatně (Pi) nebo v kombinaci s lithiem (Li-Pi), nebo kainátu, specifického agonisty kainátových receptorů excitačních aminokyselin. Pro vyvolání SE se většinou využívá podání jedné větší dávky (*single high-dose protocol*) kainátu nebo pilokarpinu, což ovšem mívá za následek velkou úmrtnost zvířat (v případě generalizovaných tonicko-klonických záchvatů po podání Li-Pi až 100%). Je proto potřeba jistým způsobem upravit dávku křečové látky natolik, aby se minimalizovala mortalita, ale přitom efektivně vyvolal status. Jednou z možností je vícenásobné podání nižších dávek (*multiple low-dose protocol*) až do počátku SE (Meier a kol., 1992; Glien a kol., 2001). Druhou možností je podání látek omezujících epileptickou aktivitu a potlačujících především motorické projevy SE, jako jsou barbituráty, nebo benzodiazepiny. I jednorázové podání těchto látek

významně snižuje mortalitu, spojenou s SE. V některých studiích (Leite a kol., 1996; E. Motles a kol., 2002) bylo k vyvolání SE použito podání konvulsancí intracerebrální injekcí přímo do limbických struktur či mozkových komor, na rozdíl od podání celkového. Tyto modely se od sebe výrazně liší v neuropatologických i funkčních následcích. Model lokálního podání excitotoxinů kombinuje přímý neurotoxický efekt těchto látek, s poškozením vyvolaným statem nebo opakovanými záchvaty (Kubová, 2009). Hlavní výhodou modelů využívajících intraparenchymální aplikace křečových látek je snížení mortality pokusných zvířat.

Epileptogeneze

Jako epileptogeneze je označován proces, při němž dochází v důsledku iniciálního poškození mozku k řadě změn na molekulární, celulární i strukturální úrovni, které postupně vedou ke zvýšení excitability a ke vzniku spontánních epileptických záchvatů, tedy epilepsii. V humánní medicíně jsou jako nejčastější epileptogenní inzulty uváděny mozkové úrazy, ischemické inzulty, neuroinfekce a epileptický status (Pitkanen a Sutula, 2002; Kubová, 2009). Některé práce posledních let nevyklučují možnou spoluúčast dvou nebo více těchto inzultů při vývoji epilepsie (*two hit theory*). Pojem „normálně se vyvíjející síť“ je tedy potřeba brát s rezervou, neboť záchvaty mohou být důsledkem již existujícího poranění mozku a ne jeho příčinou.

Jak uvádí Bender a Baram (2007), epileptogenezi lze časově rozdělit do tří fází:

- Iniciální inzult (*initiation, acute period*), který nastartuje celou řadu změn od úrovně molekulární po úroveň systémovou. Změny jsou velmi komplexní, týkají se všech složek mozkové tkáně ať neuronální, gliové nebo vaskulární, a postupně pokračují i během následujících fází vzniku i průběhu epilepsie.
- Latentní perioda (*latent period*), při které obvykle dochází k částečné úpravě stavu. Může být provázena změnami excitability mozku, ještě se však neobjevují spontánní záchvaty. Procesy vedoucí ke vzniku epilepsie stále probíhají.
- Konečná fáze (*final phase*), kdy se objevují spontánní opakované záchvaty. Další vývoj onemocnění (progrese, ztráta citlivosti k léčbě, úbytek funkčních schopností – zhoršování kognitivních schopností, poruchy sociálních interakcí, atd.).

Jednou ze základních otázek je, zda úbytek neuronů, vzniklý v souvislosti s primárním inzultem, je nezbytnou podmínkou k nastartování epileptogeneze a dále, jak je vznik a průběh onemocnění spojen s rozsahem a charakterem iniciálního poškození. S tím souvisí i otázka zda postupná neurodegenerace je důsledkem spontánních epileptických záchvatů či zda je jen pokračováním iniciálního poškození a s průběhem a charakterem epilepsie přímo nesouvisí. Zatímco studie provedené na dospělých zvířatech jednoznačně potvrzují souvislost mezi

morfologickým poškozením mozku, vzniklým v důsledku intenzivní epileptické aktivity (Sloviter, 1987) a pozdějším rozvojem epilepsie (Lothman a Bertram, 1993; Melo a kol., 1993), vývojové studie nejsou v tomto směru tak jednotné. Studie z poslední doby však naznačují, že dlouhotrvající epileptická aktivita vede k nevratnému poškození a úbytku neuronů i v nezralém mozku a ke vzniku epilepsie v pozdějším věku (Kubova a kol., 2004).

Febrilní křeče – definice a incidence

V současnosti jsou používány dvě definice febrilních křečí (FS), první od NIH (Nelson a Ellenberg, 1981) a druhá v podání ILAE (1993), které se liší jen minimálními detaily. NIH popisuje FS jako: „Událost v raném dětství, či v jeho průběhu, která obvykle nastává mezi třetím měsícem až pátým rokem života a která je spojená s horečkou, ovšem bez intrakraniální infekce nebo zjevné příčiny. Záchvaty spojené s horečkou jsou vyloučeny v případě, že dítě již dříve prodělalo nehorečnatý záchvat“. Definice v podání ILAE se liší pouze ve věkové hranici, když uvádí, že febrilní křeče mohou nastat již po prvním měsíci života jedince.

Febrilní křeče (FS) jsou nejběžnějším typem záchvatů v dětském věku. Většina prací zabývajících se FS uvádí incidenci v rozmezí 2 až 5 % u dětí do pátého roku života. Drtivá většina záchvatů se odehrává přibližně mezi 6 měsícem a 3 rokem života, s vrcholem okolo 18. měsíce, 6 – 15 % případů je u dětí starších čtyř let a u dětí školního věku je již výskyt značně neobvyklý (Hauser a Kurland, 1975; Annegers a kol., 1987; Aicardi, 1994). Připomínám, že mluvíme o prvním epileptickém záchvatu, kterému nepředcházela žádná novorozenecká afebrilní záchvat (záchvat afebrilní povahy).

Incidence FS v jednotlivých státech Evropy a v USA je prakticky shodná a drží se v rozmezí 1,8 % (Itálie), 2,2 % (Velká Británie, Kalifornie) až 3,9 % (Holandsko) (Hauser, 1994). Jiná je situace v Asii: Indie 5,1 – 10,1 % (Pal, 1999; Hackett a kol., 1997), Japonsko 8,3 % (Tsuboi, 1984), Guam 11 % (Stanhope a kol., 1972). Udávaná incidence FS v Číně je 1,7 % (Zhao a kol., 1991), na Taiwanu 2,4 % (Huang a kol., 1999; Chang a kol., 2000). Baram a Shinnar (2002) uvádějí, jako možné vysvětlení těchto geografických nesrovnalostí, skryté genetické predispozice ve zkoumaných populacích či možný vliv specifických faktorů vnějšího prostředí. Rozdíly mohou být vysvětleny i kulturními odlišnostmi, například rozdílným způsobem nocování, běžném v těchto zemích, tzv. *cosleeping*. Jedná se o systém, při kterém rodiče spí blízko svých dětí, takže mohou případné záchvaty daleko lépe zaznamenat, nežli v případě oddělených pokojů, na které jsme zvyklí v našich poměrech (Tsuboi, 1984). Tento systém je však praktikován i v ostatních oblastech, kde se FS vyskytují v nižší míře, což Tsuboiovu domněnku vyvrací. Další možné vysvětlení spojuje vyšší frekvenci febrilních

záchvatů s vyšší frekvencí infekčních chorob v tropických oblastech a také větší různorodostí infekčních, případně parazitálních onemocnění (Senanayake a Roman, 1993). Zatímco v západních zemích je většina FS spojena s onemocněními v podobě infekcí horních cest dýchacích, zánětů středního ucha, gastroenteritid a HHV-6 viru (Hirtz a kol., 1997), v tropech je množství infekčních nemocí nesrovnatelně vyšší. Je však potřeba si opět uvědomit, že nelze začlenit ty choroby, které způsobují infekci CNS, neboť by to bylo v rozporu s definicí febrilních křečí.

Co se týče rozdílů v incidenci ve vztahu k pohlaví, některé studie udávají, že signifikance v tomto směru neexistuje (Verity a kol., 1985; Offringa a kol., 1991), jiné zas, že chlapci jsou mírně náchylnější, než dívky (Hauser, 1981; Forsgren a kol., 1990). Udávané poměry chlapci:dívky se pohybují od 1,1:1 do 2:1.

Febrilní záchvaty vs. epilepsie

Febrilní záchvaty nejsou projevem epilepsie jako chronického onemocnění a výskyt febrilních křečí je jednoznačně vázán na horečnaté onemocnění. Na druhé straně je třeba zdůraznit, že u určité části dětí trpících FS, v pozdějším věku epilepsie vznikla (Berg a Shinnar, 1994). Podle této studie se pouze v 2 – 4 % případů febrilních křečí následně rozvinula epilepsie, zatímco u 1/3 dětí byly opakovaně pozorovány FS v souvislosti s dalším horečnatým onemocněním. Navíc jsou rizika pro vznik epilepsie a opakovaných horečnatých záchvatů rozdílná. Zatímco v případě opakovaných FS byla jako podstatná určena přítomnost prvního FS do jednoho roku života a také výskyt FS v rodinné historii (Berg a kol., 1997), pro vznik epilepsie jsou hlavními rizikovými faktory komplexní povaha prvotní febrilní příhody, trvání epizody, přítomnost epilepsie v rodinně a neurologické poškození, které měl jedinec již před vznikem febrilních křečí (Berg a kol., 1990).

Z hlediska perspektivy dalšího vývoje je důležité znát, jaká rizika přinášejí FS pro funkční schopnosti jedince, zejména pro další vývoj kognitivních schopností. Dosud publikované práce sice naznačují možná rizika, vznik funkčního poškození je však často závislý na přítomnosti dalších faktorů, jako je mozková atrofie či vznik epilepsie. Vyšší rizika funkčního poškození přinášejí prolongované záchvaty. Nebyly například zjištěny intelektuální rozdíly mezi dětmi s febrilním statem, u kterých se nevyvinula epilepsie, a jejich zdravými sourozenci (Ellenberg a Nelson, 1978). V britské studii zahrnující pětileté pacienty s FS, byly prokázány stavy úzkosti a spací obtíže. Oproti kontrolám se tyto děti častěji potýkaly s náměšičností, nočními můrami a problémy s usínáním (Verity a kol., 1985). Zvýšená úzkost či hyperaktivita byla pozorována i v dalších studiích (Verity a kol., 1998; Chang a kol., 2000). Van Esch se spolupracovníky

(1996) objevil vážné neurologické obtíže, jako poruchy vývoje řeči či psychomotorické poruchy, u 5 % dětí s historií FSE. Dalších 19 % projevovalo mírnější formu těchto obtíží. Souhrnně uvádějí, že dominantním vývojovým defektem jsou vady řeči.

Typy febrilních křečí

Febrilní záchvaty dělíme na jednoduché (*simple*) a komplexní (*complex*). Jako komplexní jsou vnímány ty záchvaty, které splňují alespoň jednu z následujících podmínek (Berg a kol., 1997; Berg a Shinnar, 1996; Nelson a Ellenberg, 1978):

- vznikají jako parciální záchvaty, nebo vykazují fokální rysy během záchvatu
- delší doba trvání (více než-li 10–15 minut, *prolonged*)
- opakované záchvaty během 24 hodin od první epizody

Mezi komplexní záchvaty (někdy též označovány komplikované; *complicated*) se řadí i febrilní epileptický status (*febrile status epilepticus*; FSE), tedy takový stav, který vyhovuje jak definici komplexního FS, tak definici SE (Maytal a Shinnar, 1990).

Jednoduchý FS je představován generalizovanými tonicko-klonickými křečemi bez znaku fokální aktivity, trvajících méně než 10–15 minut, který vzniká v kontextu s horečnatým onemocněním (ILAE, Commission on Epidemiology and Prognosis, 1993). Tyto méně závažné typy záchvatů (Aicadi a Chevrie, 1983; Viani a kol., 1987), tvoří 70 – 80 % všech febrilních záchvatů (Annegers a kol., 1990; Al-Eissa, 1995; Berg a Shinnar, 1996). Zbýlých 20 – 30 % tedy připadá na záchvaty komplexní povahy, které, v případě febrilního statusu, mohou vyústit až v poškození mozku, epilepsii a neurologické poškození (Aicadi a Chevrie, 1983; Viani a kol., 1987). Prolongované febrilní křeče (*prolonged febrile seizures*; PFS) jsou tak ve středu zájmu studií zabývajících se problematikou FS, k čemuž jistě přispívá i fakt, že febrilní epileptický status představuje 25 % všech dětských SE (Maytal a Shinnar, 1989 a 1990).

Hyperthermie

Stavem, který provází vznik febrilních křečí je zvýšená tělní teplota, nebo-li hyperthermie. Klinické studie udávají u dětí jako spodní hranici pro vznik FS tělesnou teplotu 38,0 – 38,4 °C (Berg a Shinnar, 1997; El.Radhi, 1986). Hodnoty nejčastěji používané v experimentálních studiích se pohybují nad hranicí 40 °C (např. S. Schuchmann a kol. ve své práci z roku 2006 uvádějí pro P8–P11 mláďata průměrnou hodnotu $41,8 \pm 0,7$ °C a pro P22–P23 hodnotu $44,2 \pm 1,1$ °C). Teplotní maximum by mohlo mít souvislost se vznikem komplexních febrilních křečí (Berg, 1993; Berg a Shinnar, 1996), neboť děti, u kterých se záchvaty vyskytly při nižší teplotě (< 38,9 °C), vykazovaly během záchvatu tendenci k projevu fokálních rysů, nebo

opakování v rámci jednoho horečnatého onemocnění.

Febrilní křeče jsou považovány za záchvaty způsobené horečkou. Důležitou roli v jejich vzniku ovšem mohou hrát i mediátory uvolňované během horečky. CNS je velmi citlivý na změny vnitřního prostředí včetně teploty. Teplota významně ovlivňuje veškeré pochody v nervovém systému včetně elektrické aktivity neuronů, citlivosti receptorů a aktivity enzymů (Hodgkin a Katz, 1949). Dochází ke změnám kinetiky hlavních iontových proudů, a některé iontové kanály jsou na teplotě přímo funkčně závislé. Teplotou vyvolaná destabilizace systému může vést ke zvýšení neuronální aktivity, frekvence a synchronizace neuronálních výbojů a následně až ke vzniku záchvatu.

Na druhé straně stojí názor, který je podpořen omezenou účinností antipyretik pro snížení nebezpečí FS, že teplota, jakožto fyzikální faktor, nemá při vzniku FS hlavní slovo a pro vznik záchvatu jsou klíčové především cytokiny a jiné mediátory, které se uvolňují v průběhu infekce. Obdobný scénář se v poslední době spojuje nejen s hypertermickými záchvaty, ale i s ostatními akutními a chronickými neurodegenerativními poruchami, jako např. cévní mozkové příhody nebo Alzheimerova choroba (Allan, 2005). Bylo kupříkladu prokázáno, že interleukin-1 beta (IL-1 β), jeden z prvních známých cytokinů, zvyšuje neuronální dráždivost (z části přes AMDA receptory). IL-1 β je syntetizován buňkami hipokampu v odpovědi na horečku nebo hyperthermii (Heida a Pittman, 2005). Po uvolnění se IL-1 β s velkou afinitou váže na typ 1 IL-1 receptor (IL-1R1), který je obsažen v gliových buňkách (mikroglie, astrocyty) a neuronech, i ve strukturách hematoencefalické bariéry (HEB). Aktivace receptoru spouští signální kaskády, které zprostředkovávají jak krátkodobou, tak dlouhodobou odpověď. Zatímco rychlý efekt se týká především změn iontových kanálů, zprostředkovaných aktivací specifických kinas, a vede k vtoku Ca²⁺ iontů (Stellwagen, 2005), dlouhodobé změny závisí na aktivaci transkripce genů způsobujících strukturální a funkční změny glií a neuronálních sítí (Brewster a Dube, 2002; Bender a Soleymani, 2003). Příkladem mohou být změny v expresi hyperpolarizací aktivovaných, cyklickými nukleotidy řízených, kanálů (HCN), které jsou zodpovědné za I_h proud (tok kationtů přispívající k udržení membránového potenciálu neuronu). Právě takové změny byly objeveny u hipokampálních pyramidových buněk po působení prolongovaných febrilních záchvatů (Schuchmann, 2006; Chen, 2001).

Je tedy zřejmé, že cytokiny (především IL-1 β), které jsou během zánětu a horečky v CNS syntetizovány, mají dopad na excitabilitu mozku (Brewster, 2005). Význam IL-1 β při vzniku febrilních křečí, dokládá i studie, při které musela být u myší, které neměly receptor IL-1R1, použita daleko vyšší teplota k vyvolání záchvatu (Dubé, 2005). Na druhou stranu experimentální studie i klinická zkušenost jasně prokazují, že křeče mohou být vyvolány i prostou hyperthermií

bez přítomnosti infekce. Zvýšení tělesné teploty pomocí teploty prostředí (teplá koupel, proud horkého vzduchu), které vyvolává záchvaty jak u dětí, tak u experimentálních zvířat, ukazuje, že cytokiny představují jeden z mechanismů, nikoli však jediný mechanismus, vedoucí ke vzniku epileptických záchvatů při zvýšení tělesné teploty organismu.

Rizikové faktory vzniku febrilních záchvatů

Febrilní záchvaty nejčastěji vznikají u dětí, které jsou během kritické věkové periody vystaveny horečnatému onemocnění. Neznamená to však, že všechny děti mladší tří let prodělají při horečce záchvat. Usuzuje se tedy, že postižené děti jsou určitým způsobem „vnímavější“ a tak oproti ostatním znevýhodněny. Uvádí se, že v rámci stejného onemocnění vykazovaly děti s FS vyšší maximální teplotu v porovnání s jedinci, u kterých se FS nevyskytovaly (Berg a Shinnar, 1995). Je tedy možné, že organismus postižených jedinců reaguje přehnaně na přítomnost antigenů a dochází k nadprodukcí cytokinů.

Roli mohou hrát i jiné faktory, například genetická predispozice, protože prokázaným rizikovým faktorem je potvrzený výskyt FS mezi rodinnými příslušníky. V některých rodinách je riziko vzniku febrilních křečí výrazně vyšší, než v jiných. S pozitivní rodinnou historií se setkáváme u 25 – 40 % pacientů (Hauser, 1985). Čím bližší příbuznost, tím větší riziko. Frekvence mezi sourozenci postižených se pohybuje od 9 % do 22 % (Van Esch, 1998). Navíc klinická data dokazují vyšší míru rizika u monozygotních dvojčat nežli u dizygotů a dvakrát vyšší riziko pro děti, jejichž oba rodiče měli FS v porovnání s těmi, u kterých byl postižen pouze jeden z rodičů (Waruiru, 2004). Ačkoliv je vliv genetických faktorů na vznik febrilních záchvatů nepopíratelný, způsob jakým se dědí zůstává neznámý. Nejčastěji se v této souvislosti hovoří o vlivu genové vazby určitých chromozomů (II., V., VIII. a XIX.), v místech lokalizace genů pro sodné kanály (Wallace, 2001). Více informací o případné roli mutací v těchto genech snad poskytnou nové epidemiologické studie, či použití geneticky modifikovaných laboratorních zvířat.

Dalším faktorem, který se v literatuře uvádí nejčastěji v souvislosti s prolongovanými FS a jejich přispěním ke vzniku temporální epilepsie (*temporal lobe epilepsy*; TLE), je abnormální vývoj mozkových struktur a s tím spojené dysfunkce. Tomuto tématu byla věnována pozornost především v 90. letech minulého století. Jedna skupina badatelů tvrdila, že febrilní křeče způsobují poškození hipokampu, které je tak příčinou vzniku hipokampální sklerosy (Hamati-Haddad a Abou-Khalil, 1998; Kanemoto a kol., 2000; VanLandingham a kol., 1998), druhý tábor vědců zastával názor, že prolongované febrilní záchvaty jsou výsledkem již existujícího poškození, vzniklého na základě prenatálního či perinatálního inzultu, nebo genetické

predispozice (Davies a kol., 1996; Fernandez a kol., 1998; Kobayashi a kol., 2001). Vzhledem k existujícím faktům se zdá být druhé vysvětlení pravděpodobnější. Nezodpovězenou otázkou však i nadále zůstává, zda komplexní či prolongované FS mohou celkovou situaci dále zhoršovat a přispívat tak k hlubšímu poškození mozku a jeho funkcí.

Opakované febrilní záchvaty

Předpokládá se, že FS komplexního charakteru, způsobují plastické změny ve vyvíjejícím se mozku, které mohou vést ke vzniku dalších záchvatů. Komplexní febrilní záchvaty tvoří ovšem podstatně menší část (20 – 30 %) všech FS. V průběhu 24 hodin se opakované FS vyskytují zhruba u 14 % postižených jedinců (Berg a Shinnar, 1996). Zůstává otázkou, proč není výskyt opakovaných FS vyšší například u dětí, u kterých teplota zůstává ve fázi horečky zvýšena po delší dobu.

Sérií experimentálně vyvolaných febrilních křečí v časových intervalech 3–4 hodiny bylo zjištěno, že teplotní práh pro vyvolání prvního záchvatu je signifikantně nižší, v porovnání s druhým záchvatem, a dále roste (Dubé a kol., 2005). Což znamená, že první záchvat spouští určitý mechanismus, který snižuje citlivost neuronální sítě a tak zabraňuje produkci druhotných záchvatů. Při hledání mechanismu této ochrany se objevili dva kandidáti. CRH (*Corticotropin releasing hormone*) a NPY (*Neuropeptide Y*), oba patřící do skupiny neuropeptidů, tedy mediátorů zprostředkovávajících dlouhodobější odpovědi, než-li klasické neurotransmitery. CRH, který je hojně vytvářen neurony vyvíjejícího se hipokampu (Chen a Bender, 2001), má excitační vlastnosti, či-li případné snížení jeho hladiny by znamenalo útlum neuronů. Kvantitativní analýzou exprimované CRH mRNA bylo však zjištěno, že množství tohoto peptidu po první febrilní příhodě ještě vzrůstá (Hatalski a kol., 2000). NPY je také vytvářen v hipokampálních strukturách, na rozdíl od CRH působí inhibičně a snižuje excitaci na synapsích. Po navázání, obzvláště na Y_2 receptory (Schwarzer a kol., 1998; Woldbye a kol., 1997 a 1998), redukuje vstup iontů vápníku do presynaptického zakončení (Qian a Colmers, 1997; Silva a kol., 2003). Zvýšené množství NPY mRNA, které signalizuje zvětšení jeho produkce, bylo zjištěno v granulárních buňkách gyrus dentatus již po 4 hodinách a v CA1 a CA3 oblastech hipokampu do 24 hodin po FS.

Lze tedy předpokládat, že u dětí, které prodělaly opakované febrilní záchvaty během 24 hodin po prvotním záchvatu, může být přítomna dysfunkce NPY systému. V takovém případě by právě ovlivnění a udržení tohoto mechanismu mohlo být vhodným cílem terapie. NPY je

podstatný i tím, že se uplatňuje též při některých dalších typech záchvatů, nejen v případě záchvatů febrilních (Velíšková, 2006). Tato hypotéza však musí být experimentálně potvrzena.

Role prolongovaných febrilních záchvatů (PFS) v epileptogenezi

Studie prokázaly, že jednoduché febrilní křeče nejsou spojeny se vznikem neurologických abnormalit. Na druhé straně, přítomnost komplexních a především prolongovaných FS je spojována s nepříznivým vývojem jedince a rizikem vzniku epilepsie v pozdějším věku. Experimentální studie se tedy zaměřují především na tento typ FS. Jako iniciální inzult se nejčastěji využívá febrilní epileptický status. V pediatrické neurologii tvoří febrilní status 5 % všech febrilních záchvatů (Berg a Shinnar, 1996), což činí cca 20 % z celkového počtu komplexních febrilních záchvatů a bezmála 25 % z celkového množství SE (Dodson a kol., 1993). Do druhého roku života se jedná vůbec o nejběžnější typ epileptického statu (2/3 všech SE) (Shinnar a kol., 1997).

Klinická pozorování naznačují, že prolongované febrilní křeče zvyšují riziko vzniku následných neprovokovaných záchvatů. Shinnar a kol. mezi roky 1984–1996 studovali 180 dětí po FSE a vyzorovali téměř dvacetiprocentní riziko vzniku epilepsie. V jiné studii se pozorováním velkého počtu jedinců po dobu sedmi let od narození ukázalo, že z 1706 dětí, které prodělaly febrilní křeče, se ve 2 % případů vyvinula epilepsie. U dětí, u nichž se FS nevyskytovaly, bylo riziko jen v 0,5 % (Nelson a Ellenberg, 1976). To znamená čtyřikrát větší riziko vzniku epilepsie po PFS. V této souvislosti existují rozdíly mezi neurologicky normálně se vyvíjejícími dětmi a těmi, které mají již od narození abnormální CNS. Klinická data nejsou v tomto směru nijak obsáhlá, neboť většina autorů vyjímala abnormálně vyvíjející se děti ze svých studií pro zachování homogenity sledovaných skupin.

Při sledování dlouhodobých důsledků prolongovaných FS se jasně ukazuje souvislost mezi přítomností tohoto typu FS a pozdějším vznikem temporální epilepsie (*temporal lobe epilepsy*, TLE), při které spontánní epileptická aktivita vychází z oblasti temporálního (spánkového) laloku.

Otázka vztahu febrilních záchvatů a temporální epilepsie v dospělosti byla a stále je předmětem mnoha studií. Starší analýzy dokumentují, že 30 – 50 % dospělých s TLE prodělalo v raném dětství FS (Gloor, 1991; Franch a Williamson, 1993). Právě prolongovanými febrilními záchvaty indukovaná neurodegenerace, byla považována za mechanismus vzniku mesální temporální sklerosy (*mesial temporal sclerosis*, MTS), hlavního patologického znaku TLE (Sagar a Oxbury, 1987; Theodore a kol., 1999). MTS, popsaná v 85 – 88 % případů TLE, je

charakterizovaná ztrátou neuronů především v CA1 a CA3 regionu. K hlubšímu poznání v této oblasti přispěl rozvoj neinvazivních zobrazovacích technik, především pak magnetické resonance (MRI) na přelomu 70. a 80. let minulého století. Díky tomu se v mnoha studiích prokázala redukce objemu mesiotemporálních struktur u pacientů s TLE (v porovnání s kontrolami), stejně jako fakt, že tato redukce je daleko výraznější u jedinců, kteří prodělali prolongované febrilní křeče (Cenders a kol., 1993; Scott a kol., 2002). Osoby s FS v průběhu raného dětství, vykazují větší stupeň MTS, než-li osoby s dlouhodobou epilepsií, avšak bez febrilních křečí.

Tyto výsledky však neprokazují jednoznačně, že prolongované křeče jsou skutečně příčinou MTS. Stejně tak mohou být následkem již existující mozkové abnormality, která se díky záchvatu a následným vyšetřením objevila. V klinické medicíně lze však roli FS ve vzniku MTS jen obtížně oddělit od ostatních patologií či genetických vlivů. Tyto problémy klinických studií lze však odstranit s použitím vhodných experimentálních modelů, u nichž lze s použitím nejmodernějších technologií přesně popsat morfologické i funkční změny, vyvolané FS v přesné korelaci s podmínkami a charakterem FS.

Jak je tedy potom možné, že prolongované záchvaty představují tak vysokou míru rizika, jak uvádějí klinické studie? Zdá se, že i když PFS u nezralých potkanů nevedou přímo ke spontánním záchvatům ve zralém věku, způsobují dlouhodobé změny v hipokampálních okruzích, které zvyšují pravděpodobnost následného excitačního kolapsu (Dubé a Chen, 2000). Tato studie prokázala signifikantní snížení hranice a zkrácení časového úseku, potřebných ke vzniku záchvatu, po podání chemických konvulsantů, u zvířat se zkušenostmi s hypertermickými záchvaty v porovnání s kontrolami. Další práce poukazují na přetrvávající změny v presynaptickém GABAergním inhibičním přenosu, které v konečném součtu vedou ke zvýšení excitace hipokampálních neuronů (Chen a Baram, 1999). V jedné práci Baram dokonce poukazuje, že malých neuronálních ztrát je prolongovanými záchvaty dosaženo už před třetím postnatálního týdnem (Baram, 2002). Všechna tyto data naznačují, že febrilní záchvaty (na komplexní úrovni) vedou k dlouhodobému navýšení dráždivosti limbických struktur a mohou tak usnadnit vznik epilepsie.

Důsledky SE pro nezralý mozek

Pro sledování důsledků prolongované epileptické aktivity, bez přítomnosti zvýšené tělesné teploty, lze použít chemicky či elektricky vyvolaný SE. Nezralý mozek byl dlouhou dobu označován jako rezistentní vůči poškození a epileptogenezi vniklým v důsledku SE. Studie z poslední doby tento názor jednoznačně vyvracejí a prokazují vznik morfologického i funkčního

poškození, vzniklého v důsledku SE, jehož rozsah a charakter jsou významně ovlivněny věkem při vyvolání inzultu.

Sankar se svými spolupracovníky (1998) prokázal na základě zvýšeného množství neuron-specifických enolás a morfologickými technikami, že epileptický status indukovaný pomocí pilokarpinu a lithia, je u mláďat spojen s rozsáhlou ztrátou neuronů v oblasti CA1. Rozsah ztrát koreloval s věkem zvířat, když minima dosahoval u P15 potkanů a s věkem rostl. Maximálních hodnot nabyl třetí postnatální týden (P21) a poškození přetrvávalo až do dospělosti. Další studie na základě MRI a histologické analýzy uvádí, že lithium-pilokarpinový status u dvanáctidenních potkanů (P12) vede k akutní neurodegeneraci v středním spánkovém laloku a následné atrofii těchto struktur (hipokampus, amygdala i perirhinální kortex) (Nairismägi a kol., 2006). U stejně starých mláďat za použití téhož modelu epileptologická laboratoř FgÚ AVČR prokázala poškození mediodorsálních jader thalamu, detekovatelné v intervalu 12 hodin až týdne po SE (Kubová a kol., 2001). Na druhou stranu skupina okolo Santose, která zjišťovala dopad tří za sebou jdoucích konvulsivních episod pilokarpinového statu u 7, 8 a 9 dní starých mláďat laboratorního potkana, neobjevila větší ztráty neuronů, i když v EEG záznamu byla prokázána epileptiformní aktivita (Santos a kol., 2000).

Stejně, jako v případě pilokarpinu, i u kainátového modelu se setkáváme s faktem, že rozsah poškození hipokampu v důsledku epileptického statu, je značně závislý na věku zvířat. V roce 1992 Stafström pozoroval spontánní záchvaty u subpopulace potkanů vystavených kainátem vyvolanému SE dvacátý den postnatálního vývoje (Stafström a kol., 1992). Velíšek a Moshé (2003) ve své práci shrnují poznatky z dřívějších prací a uvádějí, že kainátový model u potkanů způsobuje poškození CA1, granulárních buněk a především pak CA3 regionu a hilárních neuronů. Uvádí také, že toto konvulsivum způsobuje viditelnou ztrátu buněk až u P20 potkanů, což je značný rozdíl v porovnání s pilokarpinovým modelem. Na druhou stranu Franck a Schwartzkroin už roku 1984 publikovali poškození pyramidálních neuronů v CA1 oblasti u jednotýdenních králíků po podání kainátu. Celkově se ukázalo, že citlivost mladých králíků je výrazně vyšší, než-li potkanů na srovnatelném stupni vývoje (Thompson a Wasterlain, 1997).

Ze studií chemicky vyvolaného epileptického statu je zřejmé, že zásadní roli hraje věk a použitý model. Velmi významným faktorem je ovšem i způsob hodnocení neuronálního poškození či detekce záchvatu. Malý úbytek neuronů, který lze jen obtížně prokázat i s použitím nejmodernějších neuroanalytických metod, může představovat razantní snížení či dokonce vymizení určité specifické populace neuronů, což může být spojeno s významným funkčním poškozením (Kubová, 2002).

Behaviorální důsledky epileptického statu

Míra funkčního poškození nezralého mozku či vývojová retardace v důsledku intenzivní epileptické aktivity je stále předmětem diskuzí. Názory na poškození kognitivních vlastností a motoriky po SE se v jednotlivých studiích mohou významně lišit. Rozsáhlé populační studie z dřívějších let však prokazují, že u 20 % vývojově normálních dětí, které prodělaly SE ve věku jednoho měsíce až 15 let, se vyvinuly motorické poruchy a 33 % bylo mentálně retardováno (IQ < 80) (Aicardi a Chevrie, 1970 a 1983). Další práce pozorovala mentální či neurologické následky u 40 ze 79 postižených dětí (Fujiwara a kol., 1979). Novější studie (Shinnar, 2010) tyto výsledky však popírají. Důvodem pro rozdílné výstupy těchto studií může být významné zlepšení terapeutických postupů a lékařské péče v dnešní době.

Podobně jako v případě studia důsledků epileptické aktivity pro morfologickou integritu mozku lze využít experimentální modely i pro zodpovězení otázky, zda prolongovaný epileptický záchvat může poškodit funkční schopnosti a další vývoj původně zdravého jedince. I když je tento problém velmi intenzivně studován, výsledky jednotlivých pracovišť jsou jen obtížně srovnatelné především pro značnou metodickou nesourodost, která výrazně omezuje možnost vytvoření komplexní představy o následcích epileptické aktivity (Kubová, 2002).

Ještě komplikovanější je situace v hodnocení funkčních důsledků prolongované epileptické aktivity v experimentálních ontogenetických studiích. Hodnocení jakýchkoli schopností nezralých zvířat musí být založeno na volbě odpovídajících testů, které respektují vývojové stádium jedince. Nejčastěji se studie zaměřují na vývoj motorických schopností, kdy je nezbytné si uvědomit, že vývoj pohybu na všech čtyřech končetinách je postupný a že je dokončen až po 2. týdnu věku zvířete. Vývoj motoriky předních končetin předbíhá vývoj zadních končetin, což v lokomoční aktivitě vede k přechodnému výskytu některých fenoménů, které jsou součástí normálního repertoáru pohybové aktivity, ale mohou být mylně interpretovány i v případě patologických procesů. Na základě popisu vývoje lokomotorické aktivity u laboratorního potkana (Altman a Sudarshan) byla v roce 1975 vytvořena základní baterie testů, které využívá i naše laboratoř na FgÚ AVČR. Soupis jednotlivých testů by měl být k nalezení v základních behaviorálních učebních textech, uvádím proto odkazy pouze na některé stěžejní práce (Bossier a Simon, 1962; Bronstein, 1972; Altman a Sudarshan, 1975; Morris, 1981; Ba a Seri, 1995; Wall a Messier, 2001). I když existují i testy zaměřené na sledování vývoje dalších funkcí (kognice, sociální chování), jejich využití pro diagnostiku vývojových poruch u modelů epilepsie je v současné době minimální. Na základě původních studií, zaměřených na funkční poškození vyvolané prolongovanou epileptickou aktivitou převládal názor, že nezralý mozek je vůči

funkčnímu poškození rezistentní. Z tehdejších studií zkoumajících lokomoční aktivitu, emocionalitu a další prvky chování vyplývalo, že mladší vývojová stádia nevykazují po SE žádné změny ve jmenovaných oblastech (Holmes a kol., 1988; Thurber a kol., 1992; Liu a kol., 1994). Dlouhodobé negativní důsledky na kognitivní funkce se prokázaly teprve u potkanů, kterým byl status vyvolán systémovou aplikací kainátu až v 5. týdnu věku. Výsledky publikované v posledních letech však stále častěji dokumentují, že i ve velmi nezralém mozku může SE nebo prolongovaný záchvat vést ke kvantitativním či kvalitativním změnám funkčních parametrů.

Nedostatky v prostorové paměti po prodělání epileptického statu, byly u dospělých zvířat popsány již ve starších pracích (Leite a kol., 1990; Harrigan a kol., 1991), Wu se spolupracovníky (2001) však prokázal problémy s prostorovým učením u P14 potkanů testem v Morrisově vodním bludišti (LiCl-pilokarpinový model). Naše laboratoř stejným testem prokázala změny chování v Morrisově vodním bludišti i u zvířat, u kterých byl SE vyvolán 12. den věku (Kubová a kol., 2004). Potkani vystavení SE v P25 se také učili pomaleji nežli kontrolní zvířata a dokonce nikdy nedosáhli jejich úrovně. Další data ukázala, že závažnost poškození, na hipokampu závislé prostorové paměti, roste s postupujícím zráním mozku. Zhoršenou schopnost učit se vykazovala také zvířata, u nichž byly vyvolány febrilní křeče jedenáctý den postantálního vývoje (Dubé a kol., 2009). V případě kaintem indukovaného statu je situace stejná. P1, P7 i P14 potkani po něm vykazovali dlouhodobé deficity v prostorové paměti (Lynch a kol., 2000). V dříve již zmiňované práci Dos Santose a jeho kolegů, kteří zjišťovali efekt tří následných statových epizod na P7–9 potkany, se uvádí přítomnost poruch učení a zvýšená spontánní vyhledávací aktivita v pozdějším věku, zatímco v motorickém ohledu (rota-rod test) se experimentální a kontrolní zvířata nelišila. Lokomoční nedostatky se neobjevily ani v práci Wu a kol. (2001), zatímco na příkladu P12 a P25 mláďat byly prokázány trvalé změny při řešení motorických úloh (Kubová a kol., 2000). Informace o možné retardaci vývoje funkčních schopností, trvalém funkčním poškození či kvalitativních změnách funkčních parametrů v důsledku časných prolongovaných záchvatů jsou však nedostatečné a tyto faktory musejí být dále studovány. Pozornost by měla být zaměřena i na změny v chování či v kognitivních funkcích v korelaci se vznikajícími epileptickými záchvaty.

Závěr

Jak výsledky klinických tak experimentálních studií naznačují, že dlouhotrvající epileptická aktivita přináší zvýšené riziko vývojové retardace, funkčního poškození, neuropatologických změn a vzniku epilepsie v pozdějším věku. Použití vhodných experimentálních modelů umožní studovat roli jednotlivých faktorů, které se na tomto riziku podílejí a mohou tak významně přispět nejen k pochopení patofyziologických mechanismů, ale i k vývoji nových terapeutických postupů a hodnocení jejich bezpečnosti pro vyvíjející se mozek.

Literatura

- Aicardi J., Dulac O., Blume T. W., Dreifuss F. E., Wolf P., Dam M., Moshé S. L., Engel J. Jr., Pedely T. P.: Epileptic syndromes. In: *Epilepsy: A Comprehensive Textbook*. Eds. Engel J Jr, Pedely TP, Lippincott-Raven (Philadelphia), 1997, 2243–2514
- Aicardi J., Chevrie J. J.: Consequences of status epilepticus in infants and children. *Adv. Neurol.*, 1983, 34, 115–125.
- Aicardi J., Chevrie J. J.: Convulsive status epilepticus in infants and children. A study of 239 cases. *Epilepsia*, 1970, 11(2), 187–197.
- Aicardi J.: Febrile convulsions. Reven Press, 1994.
- Al-Eissa Y. A.: Febrile seizures: Rate and risk factors of recurrence. *J. Child. Neurol.*, 1995, 10, 315–319.
- Allan S. M., Tyrrell P. J., Rothwell N. J.: Interleukin-1 and neuronal injury. *Nat Rev Immunol*, 2005, 5, 629–640.
- Altman J., Sudarshan K.: Postnatal development of locomotion in the laboratory rat. *Anim. Behav.*, 1975, 23, 896–920.
- Annegers J. F., Blakely S. A., Hauser W. A., Kurland L. T.: Recurrent risk of febrile convulsions in a population-based cohort. *Epilepsy Res.*, 1990, 5, 209–216.
- Annegers J. F., Hauser W. A., Shirts S. B., Kurland L. T.: Factors prognostic of unprovoked seizures after febrile convulsions. *N.Engl.J.Med.*, 1987, 316, 493–498.
- Ba A., Seri, B. V.: Psychomotor functions in developing rats: Ontogenic approach to structure-functional relationships. *Neurosci. Biobehav. Rew.*, 1995, 19, 413–425.
- Baram T. Z., Eghbal-Ahmadi M., Bender R. A.: Is neuronal death required for seizure-induced epileptogenesis in the immature brain? *Prog. Brain Res.* 2002, 135, 365–75.
- Baram T. Z., Shinnar S.: Febrile seizures. *Academic Press*, 2002, 1.
- Bender R. A., Baram T. Z.: Epileptogenesis in the Developing Brain: What Can We Learn from Animal Models? *Epilepsia*, 2007, 48 Suppl. 5, 2–6.
- Bender R. A., Soleymani S. V., Brewster A. L., Nguyen S. T., Beck H., Mathern G. W., Baram T. Z.: Enhanced expression of a specific hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated cation channel (HCN) in surviving dentate gyrus granule cells of human and experimental epileptic hippocampus. *J. Neurosci.*, 2003, 23, 6826–6836.

- Berg A. T., Shinnar S., Darefsky A. S., et al.: Predictors of recurrent febrile seizures. *Arch Pediatr. Adolesc. Med.*, 1997, 151, 371–378.
- Berg A. T., Shinnar S., Darefsky A. S., Holford T. R., Shapiro E. D., Salomon M. E., Crain E. F., Hauser W. A.: Predictors of recurrent febrile seizures: A prospective cohort study. *Arch. Paediatr. Adolesc. Med.*, 1997, 151, 371–378.
- Berg A. T., Shinnar S., Hauser W. A., Leventhal J. M.: Predictors of recurrent febrile seizures: A metaanalytic review. *J. Pediatr.*, 1990, 116, 329–337.
- Berg A. T., Shinnar S., Shapiro E. D., Salomon M. E., Crain E. F., Hauser W. A.: Risk factors for a first febrile seizure: A matched case-control study. *Epilepsia*, 1995, 36, 334–341.
- Berg A. T., Shinnar S.: Complex febrile seizures. *Epilepsia*, 1996, 37, 126–133.
- Berg A. T., Shinnar S.: The contributions of epidemiology to the understanding of childhood seizures and epilepsy. *J. Child Neurol.*, 1994, 9, 2S19–2S26.
- Berg A. T.: Are febrile seizures provoked by a rapid rise in temperature? *Am. J. Dis. Child.*, 1993, 147, 1101–1103.
- Bossier J. R., Simon P.: La réaction d'exploration chez la souris. *Thérapie*, 1962, 17, 1225–1232.
- Brewster A. L., Bender R. A., Chen Y., Dube C., Eghbal-Ahmadi M., Baram T. Z.: Developmental febrile seizures modulate hippocampal gene expression of hyperpolarization-activated channels in an isoform- and cell-specific manner. *J. Neurosci.*, 2002, 22, 4591–4599.
- Brewster A. L.: Formation of heteromeric hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated (HCN) channels in the hippocampus is regulated by developmental seizures. *Neurobiol. Dis.*, 2005, 19, 200–207.
- Bronstein P. M.: Repeated trials with the albino rat in the open field as a function of age and deprivation. *J. Comp. Physiol. Psych.*, 1972, 81, 84–93.
- Cenders F., Andermann F., Dubeau F., Gloor P., Evans A., Jones-Gotman M.: Early childhood prolonged febrile convulsions, atrophy and sclerosis of mesial structures, and temporal lobe epilepsy: An MRI volumetric study. *Neurology*, 1993, 43, 1083–1087.
- Davies K. G., Hermann B. P., Dohan F. C., Foley K. T., Bush A. J., Wyler A. R.: Relationship of hippocampal sclerosis to duration and age of onset of epilepsy, and childhood febrile seizures in temporal lobectomy patients. *Epilepsy Res.*, 1996, 24, 119–126.
- Dobbing J., Sands J.: Comparative aspects of the brain growth spurt. *Early Hum. Dev.*, 1979, 3, 79–83.
- Dodson W. E., DeLorenzo R. J., Pedley T. A., Shinnar S., Treiman D. M., Wannamaker B. B.: The treatment of convulsive status epilepticus: Recommendations of the Epilepsy

- Foundation of America's Working Group on Status Epilepticus. *J. Am. Med. Assoc.*, 1993, 270, 854–859.
- dos Santos N. F., Arida R. M., Filho E. M., Priel M. R., Cavalheiro E. A.: Epileptogenesis in immature rats following recurrent status epilepticus. *Brain Res. Rev.*, 2000, 32, 269–276.
- Dubé C. M., Chen K., Eghbal-Ahmadi M., Brunson K., Soltesz I., Baram T. Z.: Prolonged febrile seizures in the immature rat model enhance hippocampal excitability long term. *Ann. Neurol.*, 2000, 47(3), 336–44.
- Dubé C. M., Brewster A. L., Richichi C., Zha Q., Baram T. Z.: Fever, febrile seizures and epilepsy. *Trends Neurosci.*, 2007, 30(10), 490–496.
- Dubé C. M., et al: Endogenous neuropeptide Y prevents recurrence of experimental febrile seizures by increasing seizure threshold. *J. Mol. Neurosci.*, 2005, 25, 275–284.
- Dubé C. M., Vezzani A., Behrens M., Bartfai T., Baram T. Z.: Interleukin-1 β contributes to the generation of experimental febrile seizures. *Ann Neurol.*, 2005, 57, 152–155.
- Dubé C. M., Zhou J.L., Hamamura M., Zhao Q., et al.: Cognitive Dysfunction after Experimental Febrile Seizures. *Exp. Neurol.*, 2009, 215(1), 167–177.
- Dubé C. M.: Neuropeptide Y: potential role in recurrent developmental seizures. *Peptides*, 2007, 28(2), 441–446.
- Ellenberg J. H., Nelson K. B.: Febrile seizures and later intellectual performance. *Arch. Neurol.*, 1978, 35, 17–21.
- Fernandez G., Effenberger O., Vinz B., Steinlein O., Elger C. E., Dohring W., Heinze H. H.: Hippocampal malformation as a cause of familial febrile convulsions and subsequent hippocampal sclerosis. *Neurology*, 1998, 50, 909–917.
- Forsgren L., Sidenvall R., Blomquist H. K., Heijbel J.: A prospective incidence study of febrile convulsions. *Acta. Paediatr. Scand.*, 1990, 79, 550–557.
- Franck J. E., Schwartzkroin P. A.: Immature rabbit hippocampus is damaged by systemic but not intraventricular kainic acid. *Brain Res.*, 1984, 315(2), 219–227.
- Fujiwara T., Ishida S., Miyakoshi M., Sakuma N., Moriyama S., Morikawa T., Seino M., Wada T.: Status epilepticus in childhood: a retrospective study of initial convulsive status and subsequent epilepsies. *Folia Psychiatr. Neuro. Jpn.*, 1979, 33(3), 337–344.
- Glien M., Brandt C., Potschka H., Voigt H., Ebert U., Löscher W.: Repeated low-dose treatment of rats with pilocarpine: low mortality but high proportion of rats developing epilepsy. *Epilepsy Res.*, 2001, 46, 111–119.

- Gloor P.: Mesial temporal sclerosis: Historical background and an overview from a modern perspective. *Raven Press*, 1991, pp. 689–703.
- Hackett R., Hackett L., Bhakta P.: Febrile seizures in a South Indian district. Incidence and associations. *Dev. Med. Child Neurol.*, 1997, 39, 380–384.
- Hamati-Haddad A., Abou-Khalil B.: Epilepsy diagnosis and localization in patients with antecedent childhood febrile convulsions. *Neurology*, 1998, 50, 917–922.
- Harrigan T., Peredery O., Persinger M.: Radial maze learning deficits and mediodorsal thalamic damage in context of multifocal seizure-induced brain lesions. *Behav. Neurosci.*, 1991, 105(3), 482–486.
- Hatalski C. G., Brunson K. L., Tantayanubutr B., Chen Y., Baram T. Z.: Neuronal activity and stress differentially regulate hippocampal and hypothalamic corticotropin-releasing hormone expression in the immature rat. *Neuroscience*, 2000, 101, 571–80.
- Hauser W. A., Kurland L. T.: The epidemiology of epilepsy in Rochester, Minnesota, 1935 through 1967. *Epilepsia*, 1975, 16, 1–66.
- Heida J. G., Pittman Q. J.: Causal links between brain cytokines and experimental febrile convulsions in the rat. *Epilepsia*, 2005, 46, 1906–1913.
- Hirtz D. G., Camfield C. S., Camfield P. R.: Febrile convulsions. *Epilepsy: A Comprehensive Textbook*, 1997, Vol. 3, 2483–2488.
- Hodgkin A. L., Katz B.: The effect of temperature on the electrical activity of the giant axon of the squid. *J. Physiol.*, 1949, 109, 240–249.
- Holmes G. L., Thompson J. L., Marchi T., Feldman D. S.: Behavioral effects of kainic acid administration on the immature brain. *Epilepsia*, 1988, 29, 721–730.
- Huang C., Wang S., Chang Y., Huang M., Chi Y., Tsai J.: Risk factors for a first febrile convulsion in children: A population study in southern Taiwan. *Epilepsia*, 1999, 40, 719–725.
- Chang Y., Guo N., Huang C., Wang S., Tsai J.: Neurocognitive attention and behavior outcome of school-age children with a history of febrile convulsions: A population study. *Epilepsia*, 2000, 41, 412–420.
- Chen K., Aradi I., Thon N., et al.: Persistently modified h-channels after complex febrile seizures convert the seizure-induced enhancement of inhibition to hyperexcitability. *Nat. Med.*, 2001, 7, 331–337.
- Chen K., Baram T. Z., Soltesz I.: Febrile seizures in the developing brain result in persistent modification of neuronal excitability in limbic circuits. *Nat. Med.*, 1999, 5, 888–894.

- Chen Y., Bender R., Frotscher M., Baram T. Z.: Novel and transient populations of corticotropin-releasing hormone-expressing neurons in developing hippocampus suggest unique functional roles: a quantitative spatiotemporal analysis. *J. Neurosci.*, 2001, 21, 7171–7181.
- Kanemoto K., Kawasaki J., Miyamoto T., Obayashi H., Nishimura M.: IL-1beta, IL-1alpha and IL-1 receptor antagonist gene polymorphism in patients with temporal lobe epilepsy. *Ann. Neurol.*, 2000, 47, 571–574.
- Kobayashi E., Lopes-Cendes I., Guerreiro C. A. M., Sousa S. C., Guerreiro M. M., Cendes F.: Seizure outcome and hippocampal atrophy in familial mesial temporal lobe epilepsy. *Neurology*, 2001, 56, 166–172.
- Kubová H., Druga R., Lukasiuk K., Suchomelová L., Haugvicová R., Jirmanová I., Pitkänen A.: Status epilepticus causes necrotic damage in the mediodorsal nucleus of the thalamus in immature rats. *J. Neurosci.*, 2001, 21, 3593–3599.
- Kubová H., Haugvicová R., Suchomelová L., Mareš P.: Does status epilepticus influence motor development of immature rats? *Epilepsia*, 2000, 41 (Suppl.6), S64–S69.
- Kubová H., Mareš P., Suchomelová L., Brožek G., Druga R., Pitkänen A.: Status epilepticus in immature rats leads to behavioural and cognitive impairment and epileptogenesis. *Eur. J. Neurosci.*, 2004, 19, 3255–3265.
- Kubová H.: Epileptogeneza v nezralém mozku – Zkušenost z experimentálních studií, Habitulační práce, 2002.
- Kubová H.: Experimental models of epileptogenesis, 2009.
- Kubová H.: Pharmacology of seizure drugs. *Encyclopedia of Basic Epilepsy Research*, 2009, 760–768.
- Leite J. P., Babb T. L., Pretorius J. K., Kuhlman P. A., Yeoman K. M., Mathern G. W.: Neuron loss, mossy fiber sprouting, and interictal spikes after intrahippocampal kainate in developing rats. *Epilepsy Res.*, 1996, 26, 219–231.
- Leite J. P., Nakamura E. M., Lemos T., Masur J., Cavalheiro E. A.: Learning impairment in chronic epileptic rats following pilocarpine-induced status epilepticus. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 1990, 23(8), 681–683.
- Liu Z., Gatt A., Werner S. J., Mikati M. A., Holmes G. L.: Long-term behavioral deficits following pilocarpine seizures in immature rats. *Epilepsy Res.*, 1994, 19, 191–204.
- Lothman E. W., Bertram E. H.: Epileptogenic effects of status epilepticus. *Epilepsia*, 1993, 34 Suppl. 1, S59–S70.

- Lynch M., Sayin U., Bownds J., Janumpalli S., Sutula T.: Long-term consequences of early postnatal seizures on hippocampal learning and plasticity. *Eur. J. Neurosci.*, 2000, 12, 2252–2264.
- Mareš P., Kubová H.: Electrical stimulation-induced models of seizures. *Models of Seizures and Epilepsy*, 2006, 153–159.
- Mareš P., Folbergrová J., Langmeier M., Haugvicová R., Kubová H.: Convulsant action of D,L-homocysteic acid and its stereoisomers in immature rats. *Epilepsia*, 1997, 38, 767–779.
- Maytal J., Shinnar S., Moshé S. L., Alvarez L. A.: Low morbidity and mortality of status epilepticus in children. *Pediatrics*, 1989, 83, 323–331.
- Maytal J., Shinnar S.: Febrile status epilepticus. *Pediatrics*, 1990, 86, 611–616.
- Meier C. L., Obenaus A., Dudek F. E.: Persistent hyperexcitability in isolated hippocampal CA1 of kainate-lesioned rats. *J. Neurophysiology*, 1992; 68, 2120–2127.
- Meier E., Hertz L., Schousboe A.: Neurotransmitters as developmental signals. *Neurochem Int.*, 1991, 19, 1–15.
- Morris R. G. M.: Spatial localization does not require the presence of locat clues. *Learning Motiv.*, 1981, 12, 239–261.
- Motles E., Cartier L., Infante C.: Induction and blockade of epileptic foci by intracerebral injection of glutamatergic agonists and antagonists in freely moving cats. *Arch. Ital. Biol.*, 2002, 140(1), 41–50.
- Nairismägi J., Pitkänen A., Kettunen M. I., Kauppinen R. A., Kubová H.: Status epilepticus in 12-day-old rats leads to temporal lobe neurodegeneration and volume reduction: A histologic and MRI study. *Epilepsia*, 2006, 47, 479–488.
- Nelson K. B., Ellenberg J. H.: Febrile seizures. *Raven Press*, 1981.
- Nelson K. B., Ellenberg J. H.: Predictors of epilepsy in children who have experienced febrile seizures. *N. Engl. J. Med.*, 1976, 295(19), 1029–1033.
- Nelson K. B., Ellenberg J. H.: Prognosis in children with febrile seizures. *Pediatrics*, 1978, 61, 720–727.
- Nováková V.: Weaning of young rats: Effects of time on behavior. *Science*, 1966, 151, 475–476.
- Offringa M., Hazebroek-Kampschreur A. A. J. M., Derksen-Lubsen G.: Prevalence of febrile seizures in Dutch schoolchildren. *Paediatr. Perinat. Epidemiol.*, 1991, 5, 181–188.
- Pal D. K.: Methodologic issues in assessing risk factors for epilepsy in an epidemiologic study in India. *Neurology*, 1999, 53, 2058–2063.
- Pitkanen A., Sutula T. P.: Is epilepsy a progressive disorder? Prospects for new therapeutic approaches in temporal-lobe epilepsy. *Lancet. Neurol.*, 2002, 1, 173–181.

- Qian J., Colmers W. F., Saggau P.: Inhibition of synaptic transmission by neuropeptide Y in rat hippocampal area CA1: modulation of presynaptic Ca²⁺ entry. *J. Neurosci.*, 1997, 17, 8169–8177.
- Sagar H. J., Oxbury J. M.: Hippocampal neuron loss in temporal lobe epilepsy: correlation with early childhood convulsions. *Ann. Neurol.*, 1987, 22(3), 334–340.
- Sankar R., Shin D. H., Liu H., Mazarati A., Pereira de Vasconcelos A., Wasterlain C. G.: Patterns of status epilepticus-induced neuronal injury during development and long-term consequences. *J. Neurosci.*, 1998, 18, 8382–8393.
- Scott R. C., Gadian D. G., King M. D., et al.: Magnetic resonance imaging findings within 5 days of status epilepticus in childhood. *Brain*, 2002, 125, 1951–1959.
- Senanayake N., Roman G. C.: Epidemiology of epilepsy in developing countries. *Bull. World Health Org.*, 1993, 71, 247–258.
- Shinnar S., Hesdorffer D. C.: Pediatric status epilepticus: should the diagnostic evaluation change? *Neurology*, 2010, 74(8), 624–625.
- Shinnar S., Pellock J. M., Moshé S. L., Maytal J., O'Dell C., Driscoll S. M., Alemany M., Newstein D., DeLorenzo R.J.: In whom does status epilepticus occur: age-related differences in children. *Epilepsia*, 1997, 38(8), 907–914.
- Schuchmann S., Schmitz D., Rivera C., Vanhatalo S., Salmen B., Mackie K., Sipilä S. T., Voipio J., Kaila K.: Experimental febrile seizures are precipitated by a hyperthermia-induced respiratory alkalosis. *Nat. Med.*, 2006, 12, 817–823.
- Schwarzer C., Kofler N., Sperk G.: Up-regulation of neuropeptide Y-Y2 receptors in an animal model of temporal lobe epilepsy. *Mol. Pharmacol.*, 1998, 53, 6–13.
- Silva A. P., Carvalho A. P., Carvalho C. M., Malva J. O.: Functional interaction between neuropeptide Y receptors and modulation of calcium channels in the rat hippocampus. *Neuropharmacology*, 2003, 44, 282–292.
- Sloviter R. S.: Decrease hippocampal inhibition and a selective loss of interneurons in experimental epilepsy. *Science*, 1987, 235, 73–76.
- Stafström C. E., Chronopoulos A., Thurber S., Thompson J. L., Holmes G. L.: Age-dependent cognitive and behavioral deficits after kainic acid seizures. *Epilepsia*, 1992, 34, 420–432.
- Stanhope J. M., Brody J. A., Brink E., Morris C. E.: Convulsions among the Chamorro people of Guam, Mariana Islands. *Am. J. Epidemiol.*, 1972, 95, 299–304.

- Stellwagen D., Beattie E. C., Seo J. Y., Malenka R. C.: Differential regulation of AMPA receptor and GABA receptor trafficking by tumor necrosis factor-alpha. *J Neurosci*, 2005, 25, 3219–3228.
- Theodore W. H., Bhatia S., Hatta J., Fazilat S., DeCarli C., Bookheimer S. Y., Gaillard W. D.: Hippocampal atrophy, epilepsy duration, and febrile seizures in patients with partial seizures. *Neurology*, 1999, 52(1), 132–136.
- Thompson K., Wasterlain C. G.: Lithium-pilocarpine status epilepticus in the immature rabbit. *Dev. Brain Res.*, 1997, 100, 1–4.
- Thurber S., Chronopoulos A., Stafstrom C. E., Holmes G. L.: Behavioral effects of continuous hippocampal stimulation in the developing rat. *Dev. Brain Res.*, 1992, 68, 35–40.
- Tsuboi T.: Epidemiology of febrile and afebrile convulsions in children in Japan. *Neurology*, 1984, 34, 175–181.
- Van Esch A., Ramlal I. R., van Steensel-Moll H. A., Steyerberg E. W., Derksen-Lubsen G.: Outcome after febrile status epilepticus. *Dev. Med. Child. Neurol.*, 1996, 38(1), 19–24.
- Van Esch A., Steyerberg E. W., Van Duijn C. M., et al.: Prediction of febrile seizures in siblings: a practical approach. *Neuropediatrics*, 1998, 157, 340–344.
- Velišek L., Moshé S. L.: Temporal Lobe Epileptogenesis and Epilepsy in the Developing Brain: Bridging the Gap Between the Laboratory and the Clinic. Progression, But in What Direction? *Epilepsia*, 2003, 44(Suppl. 12), 51–59.
- Velišková J.: The role of estrogens in seizures and epilepsy: the bad guys or the good guys. *Neuroscience*, 2006, 138, 837–844.
- Verity C. M., Butler N. R., Golding J.: Febrile convulsions in a national cohort followed up from birth, I. Prevalence and recurrence in the first five years of life. *Br. Med. J.*, 1985, 290, 1307–1310.
- Verity C. M., Butler N. R., Golding J.: Febrile convulsions in a national cohort followed up from birth. II.- Medical history and intellectual ability at 5 years of age. *Br. Med. J.*, 1985, 290, 1311–14.
- Verity C. M., Greenwood R., Golding J.: Long-term intellectual and behavioural outcome of children with febrile convulsions. *N. Engl. J. Med.*, 1998, 338, 1723–1738.
- Viani F., Beghi E., Romeo A, van Lierde A.: Infantile febrile status epilepticus: risk factors and outcome. *Dev. Med. Child. Neurol.*, 1987, 29(4), 495–501.

- Wall P.M., Messier C.: Methodological and conceptual issues in the use of the elevated plus-maze as a psychological measurement instrument of animal anxiety-like behavior. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 2001, 25(3), 275–286.
- Wallace R. H., Scheffer I. E., Barnett S., et al.: Neuronal sodium-channel $\alpha 1$ -subunit mutations in generalized epilepsy with febrile seizures plus. *Am. J. Hum. Genet.*, 2001, 68, 859–65.
- Waruiru C., Appleton R.: Febrile seizures: an update. *Arch. Dis. Child*, 2004, 89, 751–756.
- Wasterlain C. G., Niquet J., Thompson K. W., Baldwin R., Liu H., Sankar R., Mazarati A. M., Naylor D., Katsumori H., Suchomelová L., Shirasaka Y.: Seizure-induced neuronal death in the immature brain. *Progress in Brain Research*, 2002, 135, 335–351.
- Woldbye D. P., Larsen P. J., Mikkelsen J. D., Klemp K., Madsen T. M., Bolwig T. G.: Powerful inhibition of kainic acid seizures by neuropeptide Y via Y5-like receptors. *Nat. Med.*, 1997, 3, 761–764.
- Woldbye D. P.: Antiepileptic effects of NPY on pentylentetrazole seizures. *Regul. Pept.*, 1998, 75–76, 279–282.
- Wu C. L., Huang L. T., Liou C. W., Wang T. J., Tung Y. R., Hsu H. Y., Lai M. C.: Lithium-pilocarpine-induced status epilepticus in immature rats result in long-term deficits in spatial learning and hippocampal cell loss. *Neurosci. Lett.*, 2001, 312, 113–117.
- Zhao F., Emoto S. E., Lavine L., Nelson K. B., Wang C., Li S., Cheng X., Bolis C. L., Schoenberg B. S.: Risk factors for febrile seizures in the People's Republic of China: A case control study. *Epilepsia*, 1991, 32, 510–514.