

Univerzita Karlova

1. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce



UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta

Roztroušená skleróza mozkomíšni: korelace genové
exprese a odpovědi na imunomodulační léčbu

MUDr. Pavlína Kleinová

2023

Doktorské studijní programy v biomedicině

Univerzita Karlova a Akademie věd České republiky

Studijní program: Neurovědy

Předseda oborové rady: prof. MUDr. Jan Laczó, Ph.D.

Školící pracoviště: Neurologická klinika 1. LF UK a VFN
v Praze

Školitel: prof. MUDr. Eva Kubala Havrdová, CSc.

Disertační práce bude nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněna k nahlížení veřejnosti v tištěné podobě na Oddělení pro vědeckou činnost a zahraniční styky Děkanátu 1. lékařské fakulty.

Obsah

Abstrakt	4
Abstract	5
1. Úvod	6
2. Hypotézy a cíle práce	6
3. Materiál a metodika	7
4. Výsledky	8
5. Diskuse	10
6. Závěry	13
7. Použitá literatura	14
8. Seznam publikací	17

Abstrakt

Roztroušená skleróza je chronické autoimunitní onemocnění centrální nervové soustavy s genetickou komponentou, ovlivnitelné imunomodulační léčbou. Předpokládá se vliv genetických faktorů na průběh onemocnění a léčebnou odpověď. Disertační práce prezentuje výsledky dvou studií zkoumající genetické pozadí roztroušené sklerózy.

V první studii byl u osob s roztroušenou sklerózou zkoumán vliv $(GT)_n$ polymorfismu promotoru genu HMOX1 pro hem-oxygenázu 1 ovlivňujícího její expresi. Nebyl pozorován vliv zkoumaného polymorfismu na průběh onemocnění. Potvrdili jsme vliv imunomodulační léčby na oddálení progresse onemocnění.

Druhá studie nazvaná Genotype/Phenotype Project je multicentrická mezinárodní celogenomová asociační studie jejímž cílem bylo odhalit bodové polymorfismy asociované s tíží průběhu roztroušené sklerózy. Bylo prokázáno, že běžné genetické varianty se střední až velkou velikostí účinku nepřispívají k závažnosti roztroušené sklerózy. Bylo demonstrováno, že strojové učení využívající společné klastry bodových polymorfismů spolu s klinickými proměnnými, které jsou snadno dostupné v době diagnózy, může zlepšit prognostické schopnosti v době diagnózy a po další validaci má potenciál najít využití v klinické praxi.

Klíčová slova: roztroušená skleróza, genetika, hem-oxygenáza 1, celogenomová asociační studie, strojové učení

Abstract

Multiple sclerosis is a chronic autoimmune disease of the central nervous system with a genetic component, modifiable with immunomodulatory therapy. It is assumed that genetic factors influence the course of the disease and the therapeutic response. The thesis presents the results of two studies investigating the genetic background of multiple sclerosis.

In the first study, the influence of the (GT)_n polymorphism of the promoter of the HMOX1 gene for haem oxygenase 1 affecting its expression was investigated in people with multiple sclerosis. No effect of this polymorphism on the course of the disease was observed. We confirmed the effect of immunomodulatory therapy on delaying disease progression.

The second study, called the Genotype/Phenotype Project, is a multicentre international genome-wide association study aimed at detecting single nucleotide polymorphisms associated with severity of multiple sclerosis. It has been shown that common genetic variants with medium to large effect sizes do not contribute to the severity of multiple sclerosis. It has been demonstrated that machine learning using common clusters of single nucleotide polymorphisms together with clinical variables that are readily available at the time of diagnosis can improve prognostic ability at the time of diagnosis and, with further validation, has the potential to find use in clinical practice.

Keywords: multiple sclerosis, genetics, heme oxygenase 1, genome-wide association study, machine learning

1. Úvod

Roztroušená skleróza (RS) je chronické autoimunitní demyelinizační onemocnění centrální nervové soustavy (Attfield, K.E. et al., 2022). Jeho průběh lze významně zmírnit imunomodulační léčbou (Sorensen, P.S. et al., 2020). Na vzniku RS se podílí vzájemné interakce většího množství běžných variant genů malého účinku a faktorů prostředí (Sawcer, S. et al., 2014). Celogenomové asociační studie (genome-wide association studies, GWAS) identifikovaly dosud 233 bodových polymorfismů (single nucleotide polymorphisms, SNPs) asociovaných s rizikem rozvoje RS (Consortium, I.M.S.G., 2019). Variabilita průběhu RS a léčebné odpovědi není objasněna, předpokládá se také vliv genetických faktorů (Goris, A. et al., 2022). Z předchozích studií vyplývá, že zvýšená aktivita hem oxygenázy 1 může zmírnit autoimunitní zánět v experimentálních modelech roztroušené sklerózy. Tato zvýšená aktivita souvisí se zvýšeným počtem GT repetice (≥ 25) v promotoru genu HMOX1 (Campbell, N.K. et al., 2021).

2. Hypotézy a cíle práce

Studie I: Polymorfismus hem-oxygenázy 1

- Primární cíl: Určit vztah počtu (GT) repetice v promotoru genu HMOX1 HO-1 a rychlosti akumulace neurologického deficitu u pacientů s RS.
- Sekundární cíl: Validovat známé faktory asociované s rychlejším nárůstem neurologického deficitu u pacientů s RS.

Hypotézy studie I:

- Pacienti s roztroušenou sklerózou, kteří mají více než 25 (GT) repetic v promotoru HMOX1, vykazují rychlejší progresi neurologického postižení.
- Pacienti s pozdějším nástupem RS, mužského pohlaví, s primárně progresivní formou RS a pacienti neléčení DMDs vykazují rychlejší nárůst neurologického postižení následkem RS.

Studie II: Genotype/Phenotype project

- Primární cíle: Odhalit jednonukleotidové varianty spojené s tíží RS pomocí přesného stanovení fenotypu RS. Vytvořit model schopný predikovat průběh onemocnění s využitím SNVs již v době diagnózy RS.
- Sekundární cíle: Prozkoumat SNV zjištěné v primární analýze a cíleně replikovat dosud reportované možné markery tíže RS. Zjistit, zda geny se známou asociací s náchylností k RS jsou asociované i se závažností průběhu RS.

Hypotézy studie II:

- Genetické varianty ovlivňují průběh a závažnost RR RS a je možné je odhalit pomocí prospektivního, longitudinálního sběru dat.
- Model vytvořený metodou strojového učení využívající jednonukleotidové varianty (SNVs) má dostatečnou pozitivní prediktivní hodnotu, aby mohl být využit ke klinickému rozhodování o léčbě v době diagnózy RS.
- Geny asociované s rizikem RS ovlivňují závažnost RS.

3. Materiál a metodika

Všechny uvedené studie byly schváleny Etickou komisí Všeobecné fakultní nemocnice v Praze. Od každého účastníka byl získán písemný informovaný souhlas.

Studie I: Polymorfismus hem-oxygenázy 1

Vyšetřili jsme 338 pacientů s roztroušenou sklerózou, 173 z nich bylo léčeno imunomodulační léčbou. Pacienti byli rozděleni na pacienty s "rychlým" nebo "opožděným" průběhem na základě dosažení EDSS 4 do devíti let od začátku onemocnění a pomocí logistické regresní analýzy byly hledány korelace mezi průběhem onemocnění a zkoumanými charakteristikami.

Studie II: Phenotype/Genotype Project

Použili jsme prospektivně sbírané údaje o klinických ukazatelích z největšího mezinárodního registru roztroušené sklerózy, MSBase dat (Butzkueven, H. et al., 2006). Sestavili jsme kohortu podrobně fenotypizovaných jedinců evropského původu s relaps remitentní a sekundárně progresivní roztroušenou sklerózou. K posouzení genetického podílu na longitudinálně definovaných fenotypech závažnosti roztroušené sklerózy u 1813 jedinců jsme použili celogenomovou asociační studii a přístupy strojového učení.

4. Výsledky

Studie I: Polymorfismus hem-oxygenázy 1

Nebyl zjištěn statisticky významný vliv $(GT)_n$ polymorfismu promotoru genu HMOX1 na rychlost progresu invalidity ($P = 0,9$). To potvrdila i Coxova regresní analýza, která nezjistila žádný rozdíl v kumulativním riziku dosažení EDSS 4 mezi pacienty s dlouhým a krátkým promotorem genu HMOX1 ($P = 0,7$). Naopak proměnné významně asociované s rychlejší progresí invalidity byly: progresivní průběh roztroušené sklerózy, kratší doba trvání imunomodulační léčby a vyšší věk při začátku onemocnění ($P \leq 0,04$). Jako sekundární výsledek jsme viděli, že imunomodulační léčba má

potenciál oddálit progresi postižení u pacientů s roztroušenou sklerózou.

Studie II: Phenotype/Genotype Project

Naše primární analýzy neidentifikovaly žádné genetické varianty se střední až velkou velikostí účinku, které by splňovaly prahové hodnoty významnosti pro celý genom. Nejsilnější signál byl spojen s rs7289446 ($\beta = -0,4882$, $P = 2,73 \times 10^{-7}$), intronickým k SEZ6L na chromozomu 22. Prokázali jsme však, že klinické výstupy u relabující roztroušené sklerózy jsou spojeny s více genetickými lokusy s malou velikostí účinku. Pomocí přístupu strojového učení zahrnujícího více než 62 000 variant spolu s klinickými a demografickými proměnnými dostupnými při začátku onemocnění roztroušenou sklerózou jsme mohli předpovědět závažnost s area under receiver operator curve (AUROC) 0,84 (95 % CI 0,79-0,88). Náš algoritmus strojového učení dosáhl pozitivní prediktivní hodnoty pro přiřazení výsledku 80 % a negativní prediktivní hodnoty 88 %. Tím překonal náš algoritmus strojového učení, který obsahoval pouze klinické a demografické proměnné (AUROC 0,54, 95 % CI 0,48-0,60).

Sekundární analýzy stratifikované podle pohlaví identifikovaly dva genetické lokusy, které dosáhly prahové hodnoty významnosti pro celý genom. Jeden u žen (rs10967273; $\beta_{\text{female}} = 0,8289$, $P = 3,52 \times 10^{-8}$), druhý u mužů (rs698805; $\beta_{\text{male}} = -1,5395$, $P = 4,35 \times 10^{-8}$), což poskytuje určitý důkaz pohlavního dimorfismu v závažnosti roztroušené sklerózy. Analýzy tkáňového obohacení a drah identifikovaly nadměrné zastoupení genů exprimovaných v kompartmentech CNS obecně a konkrétně v mozečku ($P = 0,023$). Týkaly se

mitochondriální funkce, synaptické plasticity, oligodendrogliaální biologie, buněčné senescence, signálních drah kalciových a G-proteinových receptorů. Dále jsme identifikovali šest variant se silnými důkazy o regulaci klinických ukazatelů, přičemž nejsilnější signál byl opět intronický k SEZ6L (upravený poměr rizik 0,72, $P = 4,85 \times 10^{-4}$).

5. Diskuse

Studie I: Polymorfismus hem-oxygenázy 1

Nezjistili žádný vliv $(GT)_n$ polymorfismu HMOX1 na rychlost progresu RS. Progrese byla urychlena pouze dobře známými rizikovými faktory, jako je pozdní začátek RS nebo primárně progresivní průběh RS. Klinicky významné je, že léčba DMDs byla spojena s nižším výskytem rychlé progresu postižení.

Jedná se o první studii hodnotící vliv polymorfismu HMOX1 $(GT)_n$ na rychlost progresu RS.

Na základě našich výsledků jsme hypotézu o vlivu polymorfismu promotoru HMOX1 na průběh RS zamítli. Námi pozorovaný nedostatek vlivu polymorfismu HMOX1 $(GT)_n$ na průběh RS lze přičíst dualistické úloze HO-1 a jejích induktorů a produktů. Samotná indukce HO-1 v CNS navíc může být ovlivněna epigenetickými nebo posttranslačními modifikacemi, které nejsou dostatečně známy (Campbell, N.K. et al., 2021).

Jako sekundární výsledek jsme potvrdili výsledky jiných studií, které ukázaly, že DMDs jsou účinné při zpomalování progresu postižení u pacientů s roztroušenou sklerózou (Sorensen, P.S. et al., 2020). Jelikož však rozdílná úroveň exprese HO-1 určená polymorfismem $(GT)_n$ nevykazuje žádný měřitelný dopad na míru

progrese postižení, je nepravděpodobné, že by HO-1 hrála významnou roli ve zprostředkování léčebného účinku.

Předpokládáme, že z rozsáhlých multicentrických celogenomových asociačních studií, které zkoumají přímo osoby s RS, mohou vyplynout genetické varianty ukazující na kandidátní geny ovlivňující rozvoj, průběh RS a léčebnou odpověď.

Studie II: Phenotype/Genotype Project

Naše GWAS studie využila jedinečný, multicentrický, prospektivně sledovaný, longitudinální a hluboce fenotypizovaný soubor klinických dat (Butzkueven, H. et al., 2006) s cílem osvětlit genetickou strukturu, která je základem klinické heterogenity roztroušené sklerózy. Naše primární analýzy neidentifikovaly žádné běžné varianty se střední až velkou velikostí účinku, které by přispívaly k závažnosti roztroušené sklerózy. Časem a na ještě větších kohortách bude pravděpodobně potvrzeno, že závažnost roztroušené sklerózy je alespoň částečně určována polygenními mechanismy s malou velikostí účinku.

Naše výsledky ukázaly, že běžné genetické varianty vysvětlují pouze cca 20 % dědičnosti závažnosti, a to s velkým rozpětím odchylky. Průběh RS tedy není pod silnou genetickou kontrolou, což naznačuje, že průběh RS je do určité míry modifikovatelný vhodnou a včasnou intervencí DMDs, což je v souladu s klinickými zkušenostmi (Iaffaldano, P. et al., 2021). Možné ovlivnění léčbou jsme se pokusili korigovat adjustováním na léčbu. Předpokládáme i interakce mezi environmentálními a genetickými faktory, které mohou být v budoucnu osvětleny epigenetickými studiemi.

Nejvýznamnějšími signály asociované s tíží RS byly varianty intronické k *SEZ6L*, genu s funkcí v CNS. Integrace třiceti nejvýznamnějších SNVs identifikovaných v našich analýzách GWAS do analýz přežití milníků postižení určila, že šest z těchto variant má další důkazy o modulaci závažnosti, a proto se pravděpodobně jedná o skutečné asociace. Pět z těchto variant se nacházelo v intronické části nebo v blízkosti genů, které se podílejí na funkci CNS. K ověření toho, zda jsou tyto varianty skutečně asociovány se závažností RS, bude nutné provedení studie na větší kohortě.

Analýzy obohacení genových sad ukazují na vyšší zastoupení genů významných pro funkci mozečku. Je známo, že cerebellární příznaky jsou prediktorem horší prognózy RS (Le, M. et al., 2021).

V rámci sekundárních analýz se podařilo replikovat asociaci mezi nejsilnější alelou zvyšující riziko RS a začátkem onemocnění (Van der Walt, A. et al., 2011). Dále byla naše studie první, která replikovala asociaci varianty rs868824, intronické k *IMMP2L*, a začátkem RS (Baranzini, S.E. et al., 2009).

Náš model strojového učení využívající všechny SNV s $P \leq 0,01$ neposkytl přidaný vhled do genetické architektury závažností RS a potvrdil názor, že mnoho běžných SNPs přispívá k závažnosti RS velmi malým účinkem. Nicméně tento model strojového učení byl schopen přisoudit stupeň závažnosti RS s pozitivní prediktivní hodnotou 80 % a negativní prediktivní hodnotou 88 %.

Součástí modelu bylo i wGRS (vážené genetické skóre rizika RS), ale významně k jeho výsledkům nepřispělo. To potvrzuje naši hypotézu o tom, že geny spojené s náchylností k RS nejsou shodné s geny přispívajícími

k závažnosti RS, a je to i v souladu s dřívějšími zjištěními (George, M.F. et al., 2016).

Námi vytvořený model je první model strojového učení využívající pouze data dostupná na počátku onemocnění. Dříve publikovaný model je srovnatelně úspěšný, ovšem využívá i údaje dostupné až po letech průběhu RS (Pinto, M.F. et al., 2020).

Předpokládáme, že náš model strojového učení by mohl být dále vylepšen zahrnutím údajů z vyšetření mozku magnetickou rezonancí a údajů o přítomnosti oligoklonálních pášů v mozkomíšním moku. Nicméně máme v úmyslu naši kohortu rozšířit, abychom mohli výsledky validovat a získali dostatečně velkou kohortu, která by umožnila studium odpovědi na léčbu různými DMDs.

6. Závěry

Studie I: Polymorfismus hem-oxygenázy 1

Nezjistili jsme vliv (GT)_n polymorfismu HMOX1 na rychlost progresu RS. Hypotézu, že (GT)_n polymorfismus promotoru HMOX1, vedoucí k nižší expresi hem-oxygenázy, je spojen s pomalejší progresí neurologického postižení, jsme zamítli.

Jako sekundární výsledek jsme potvrdili, že rychlejší progresu RS je asociována s pozdním začátkem RS a primárně progresivním průběhem. Důležité je, že léčba DMDs byla spojena s nižším výskytem rychlé progresu postižení.

Studie II: Phenotype/Genotype Project

Prokázali jsme, že běžné genetické varianty se střední až velkou velikostí účinku nepřispívají k závažnosti

roztroušené sklerózy. Genetické varianty malého účinku v naší studii odhaleny nebyly.

Demonstrujeme, že strojové učení využívající společné klastry SNV spolu s klinickými proměnnými, které jsou snadno dostupné v době diagnózy, může zlepšit prognostické schopnosti v době diagnózy a po další validaci má potenciál najít využití v klinické praxi.

V sekundárních analýzách stratifikovaných podle pohlaví jsme identifikovali dva genetické lokusy, které překročily prahy významnosti GWAS. Identifikovali jsme dalších šest variant se silnými důkazy o regulaci klinických výsledků. Pozorovali jsme nadměrné zastoupení genů exprimovaných v kompartmentech CNS obecně a konkrétně v mozečku. Ty se týkaly mitochondriální funkce, synaptické plasticity, oligodendroglíální biologie, buněčné senescence, signálních drah vápníku a g-proteinových receptorů, což potvrzuje funkční dichotomii signálů a drah, které regulují závažnost roztroušené sklerózy versus riziko, a dále přispívá k našemu porozumění patogenezi roztroušené sklerózy.

7. Použitá literatura

1. Attfield KE, Jensen LT, Kaufmann M, Friese MA, Fugger L. The immunology of multiple sclerosis. *Nat Rev Immunol* 2022.
2. Baranzini SE, Wang J, Gibson RA, Galwey N, Naegelin Y, Barkhof F, Radue EW, Lindberg RL, Uitdehaag BM, Johnson MR, Angelakopoulou A, Hall L, Richardson JC, Prinjha RK, Gass A, Geurts JJ, Kragt J, Sombekke M, Vrenken H, Qualley P, Lincoln RR, Gomez R,

- Caillier SJ, George MF, Mousavi H, Guerrero R, Okuda DT, Cree BA, Green AJ, Waubant E, Goodin DS, Pelletier D, Matthews PM, Hauser SL, Kappos L, Polman CH, Oksenberg JR. Genome-wide association analysis of susceptibility and clinical phenotype in multiple sclerosis. *Human molecular genetics* 2009;18(4):767-78.
3. Butzkueven H, Chapman J, Cristiano E, Grand'Maison F, Hoffmann M, Izquierdo G, Jolley D, Kappos L, Leist T, Pohlau D, Rivera V, Trojano M, Verheul F, Malkowski JP. MSBase: an international, online registry and platform for collaborative outcomes research in multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 2006;12(6):769-74.
 4. Campbell NK, Fitzgerald HK, Dunne A. Regulation of inflammation by the antioxidant haem oxygenase 1. *Nat Rev Immunol* 2021;21(7):411-25.
 5. Consortium IMSG. Multiple sclerosis genomic map implicates peripheral immune cells and microglia in susceptibility. *Science* 2019;365(6460).
 6. George MF, Briggs FB, Shao X, Gianfrancesco MA, Kockum I, Harbo HF, Celius EG, Bos SD, Hedstrom A, Shen L, Bernstein A, Alfredsson L, Hillert J, Olsson T, Patsopoulos NA, De Jager PL, Oturai AB, Sondergaard HB, Sellebjerg F, Sorensen PS, Gomez R, Caillier SJ, Cree BA, Oksenberg JR, Hauser SL, D'Alfonso S, Leone MA, Martinelli Boneschi F, Sorosina M, van der Mei I, Taylor BV, Zhou Y, Schaefer C, Barcellos LF. Multiple sclerosis risk loci and disease severity in 7,125 individuals from 10 studies. *Neurol Genet* 2016;2(4):e87.

7. Goris A, Vandebergh M, McCauley JL, Saarela J, Cotsapas C. Genetics of multiple sclerosis: lessons from polygenicity. *Lancet Neurol* 2022;21(9):830-42.
8. Iaffaldano P, Lucisano G, Butzkueven H, Hillert J, Hyde R, Koch-Henriksen N, Magyar M, Pellegrini F, Spelman T, Sorensen PS, Vukusic S, Trojano M. Early treatment delays long-term disability accrual in RRMS: Results from the BMSD network. *Mult Scler* 2021;13524585211010128.
9. Le M, Malpas C, Sharmin S, Horakova D, Havrdova E, Trojano M, Izquierdo G, Eichau S, Ozakbas S, Lugaresi A, Prat A, Girard M, Duquette P, Laroche C, Alroughani R, Bergamaschi R, Sola P, Ferraro D, Grammond P, Grand' Maison F, Terzi M, Boz C, Hupperts R, Butzkueven H, Pucci E, Granella F, Van Pesch V, Soysal A, Yamout BI, Lechner-Scott J, Spitaleri D, Ampapa R, Turkoglu R, Iuliano G, Ramo-Tello C, Sanchez-Menoyo JL, Sidhom Y, Gouider R, Shaygannejad V, Prevost J, Altintas A, Fragoso YD, McCombe PA, Petersen T, Slee M, Barnett MH, Vucic S, Van Der Walt A, Kalincik T. Disability outcomes of early cerebellar and brainstem symptoms in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2021;27(5):755-66.
10. Pinto MF, Oliveira H, Batista S, Cruz L, Pinto M, Correia I, Martins P, Teixeira C. Prediction of disease progression and outcomes in multiple sclerosis with machine learning. *Scientific Reports* 2020;10(1):21038.
11. Sawcer S, Franklin RJ, Ban M. Multiple sclerosis genetics. *Lancet Neurol* 2014;13(7):700-9.
12. Sorensen PS, Sellebjerg F, Hartung HP, Montalban X, Comi G, Tintore M. The apparently milder course of multiple sclerosis: changes in the diagnostic criteria,

- therapy and natural history. *Brain* 2020;143(9):2637-52.
13. Van der Walt A, Stankovich J, Bahlo M, Taylor BV, Van der Mei IA, Foote SJ, Rubio JP, Kilpatrick TJ, Butzkueven H. Heterogeneity at the HLA-DRB1 allelic variation locus does not influence multiple sclerosis disease severity, brain atrophy or cognition. *Multiple sclerosis* 2011;17(3):344-52.

8. Seznam publikací

Souhrnný IF = 33,56

Seznam publikací *in extenso*, které jsou podkladem disertační práce, s IF

1. **Zborníková P**, Králík L, Lelková P, Kalinčík T, Havrdová E, Martásek P. (2012) Microsatellite polymorphism in haem oxygenase 1 gene promoter in multiple sclerosis. *Folia Biol (Praha)*. 58(2):69-74. PMID: 22578957. IF₂₀₂₁ = 1,167
2. Jokubaitis V. G., Campagna M. P., Ibrahim O., Stankovich J., **Kleinova P.**, Matesanz F., Hui D., Eichau S., Slee M., Lechner-Scott J., Lea R., Kilpatrick T. J., Kalincik T., De Jager P. L., Beecham A., McCauley J. L., Taylor B. V., Vucic S., Laverick L., Vodehnalova K., García-Sánchez M.-I., Alcina A., van der Walt A., Kubala Havrdova E., Izquierdo G., Patsopoulos N., Horakova D., Butzkueven H. (2022) Not all roads lead to the immune system: the genetic basis of multiple sclerosis severity, *Brain*, awac449, <https://doi.org/10.1093/brain/awac449>. IF₂₀₂₁ = 15,255

Seznam publikací *in extenso*, které nejsou podkladem disertační práce, s IF

1. Nytrová P., **Kleinová P.**, Preiningerová Lízrová J., Král V., Hind'oš M., Vaněčková M., Havrdová E., Horáková D."Neuromyelitis optica a poruchy jejího širšího spektra – retrospektivní analýza klinických a paraklinických nálezů". *Ceská a Slovenská Neurologie a Neurochirurgie* 2015; 78/111(1): 72-77. IF₂₀₂₁ = 0,411
2. Kuhle, J., Disanto G., Dobson R., Adiutori R., Bianchi L., Topping J., Bestwick J. P., Meier U. C., Marta M., Dalla Costa G., Runia T., Evdoshenko E., Lazareva N., Thouvenot E., Iaffaldano P., Direnzo V., Khademi M., Piehl F., Comabella M., Sombekke M., Killestein J., Hegen H., Rauch S., D'Alfonso S., Alvarez-Cermeno J. C., **Kleinova P.**, Horakova D., Roesler R., Lauda F., Llufriu S., Avsar T., Uygunoglu U., Altintas A., Saip S., Menge T., Rajda C., Bergamaschi R., Moll N., Khalil M., Marignier R., Dujmovic I., Larsson H., Malmstrom C., Scarpini E., Fenoglio C., Wergeland S., Laroni A., Annibali V., Romano S., Martinez A. D., Carra A., Salvetti M., Uccelli A., Torkildsen O., Myhr K. M., Galimberti D., Rejdak K., Lycke J., Frederiksen J. L., Drulovic J., Confavreux C., Brassat D., Enzinger C., Fuchs S., Bosca I., Pelletier J., Picard C., Colombo E., Franciotta D., Derfuss T., Lindberg R., Yaldizli O., Vecsei L., Kieseier B. C., Hartung H. P., Villoslada P., Siva A., Saiz A., Tumani H., Havrdova E., Villar L. M., Leone M., Barizzone N., Deisenhammer F., Teunissen C., Montalban X., Tintore M., Olsson T., Trojano M., Lehmann S., Castelnovo G., Lapin S., Hintzen R.,

- Kappos L., Furlan R., Martinelli V., Comi G., Ramagopalan S. V. , Giovannoni G. Conversion from clinically isolated syndrome to multiple sclerosis: A large multicentre study. *Multiple Sclerosis Journal* 2015, **21**(8): 1013-1024. IF₂₀₂₁ = 5,855
3. Preiningerova, J. L., Jiraskova Zakostelska Z., Srinivasan A., Ticha V., Kovarova I., **Kleinova P.**, Tlaskalova-Hogenova H. a Kubala Havrdova E. Multiple Sclerosis and Microbiome. *Biomolecules* 2022, **12**(3). IF₂₀₂₁ = 6,064
 4. Stastna, D., Menkyova I., Drahota J., Hrniciarova T., Kubala Havrdova E., Vachova M., Andelova M., **Kleinova P.**, Kovarova I., Krasulova E., Preiningerova J. L., Novakova I., Novotna K., Novotna M., Nytrova P., Pavlickova J., Srpova B., Storey K., Ticha V., Tyblova M., Uher T., Vodehnalova K., Horakova D. To be or not to be vaccinated: The risk of MS or NMOSD relapse after COVID-19 vaccination and infection. *Multiple Sclerosis and Related Disorders Journal* 2022, **65**: 104014. IF₂₀₂₁ = 4,808

Seznam *in extenso*, které nejsou podkladem disertační práce, bez IF

1. **Zborníková P.**, Krasulová E., Bušek P., Nytrová P., Peterová V., Špačková N., Havrdová E. Autoimunitní limbická encefalitida asociovaná s LGII protilátkami. *Neurologie pro praxi*. 2012, **13**(6), 343-346.

Další publikace – části knih

1. **Kleinová P.**, Martásek P. Genetika roztroušené sklerózy. In Havrdová E. *Roztroušená skleróza*. Praha: Mladá fronta, 2013, s. 85-99. ISBN: 978-80-204-3154-7
2. **Kleinová P.** Epileptický status po léčbě ataky: Jde opravdu o ataku RS?. In: Horáková D. *Autoimunita nervového systému v kazuistikách*. Praha: Mladá fronta, 2017, s. 47-54. ISBN 978-80-204-4572-8.