



informace na nukleotidové úrovni. Změny párů bází (pb) adeninu (A), thyminu (T), cytosinu (C) a guaninu (G) v genetické informaci člověka (DNA, deoxyribonukleotidová kyselina) jsou nezbytným zdrojem variability mezi jedinci. Na druhou stranu některé tyto změny způsobují produkci chybně sestaveného proteinu nebo jeho nadprodukcii či absenci. K zachycení těchto změn se dnes používá NGS technologie (next generation sequencing). Tato metoda, díky své kapacitě a rychlosti, umožňuje analýzu sérií vybraných genů (panelové sekvenování), všech kódujících regionů DNA (celoexomové sekvenování, WES) nebo i celého lidského genomu (celogenomové sekvenování, WGS) (45).

Výběr genů do panelového sekvenování je založen na dosavadní znalosti jejich funkce. Vybírány jsou zejména geny, které byly již dříve asociované s rozvojem PAS, např. v rámci strukturálních změn chromozomu, nebo na základě jejich role při vývoji a správné funkci mozku (46, 47). Tyto série zahrnují řádově stovky genů a jejich záchytnost se pohybuje mezi 5,7–26,8 % (48, 49, 50). Celková výtěžnost testu je závislá na výběru genů i na klinickém projevu pacienta. I zde byla prokázána vyšší záchytnost u pacientů s kombinací PAS a dalšími klinickými jevy zejména s mentální retardací (49).

K analýze celého genomu pacientů lze použít přístup celoexomového sekvenování (WES) nebo celogenomového sekvenování (WGS). U pacientů s PAS je výtěžnost těchto postupů o 3,7–9,2 % vyšší než u panelového sekvenování (51, 52, 53). Stanovení klinického významu nalezených nukleotidových změn je založeno na mnoha faktorech, např. na dopadu zachycené změny na protein, na znalosti genů, v nichž se změna nachází, na původu této změny (zdeděná od rodiče/*de novo*), zda leží na X chromozomu (zejména u chlapců) atd. (54, 55).

Analýza TRIO, která vyžaduje vyšetření probanda a jeho rodičů, je účinným nástrojem ke stanovení původu pozorovaných změn u pacienta. Až u 80 % pacientů s PAS jsou nukleotidové změny pozorovány *de novo* (51, 56). Zbylé faktory jsou analyzovány pomocí expresních studií, funkčních analýz, *in silico* predikcí a klinických studií (57, 58, 59).

Epigenetika

Epigenetika se zaměřuje na analýzu regulace exprese proteinu, ke které dochází bez chromozomální nebo nukleotidové změny genomu. Toto odvětví genetiky zahrnuje sledování modifikace histonů, metylace DNA a mikroRNA (mikroribonukleotidová kyselina). Používané metody se liší na základě mechanismu, který je potřeba sledovat, např. imunoprecipitační čipové technologie (ChIP-on-chip), metyl specifická multiplexová PCR (MS PCR), vhodně upravená aCGH (60).

U pacientů s PAS je klinická analýza epigenomu prováděna v konkrétních případech syndromů asociovaných s PAS, jako jsou Praderův–Williho nebo Angelmanův syndrom. Obě onemocnění mohou vznikat ztrátou části genomu, ale i poruchou metylace DNA. Autistická porucha je pozorována až v 25 % u Praderova-Williho syndromu a 34 % u Angelmanova syndromu (30, 41, 42). Ačkoliv několik studií prokázalo roli epigenetiky v etiologii PAS, v klinické praxi se tyto metody v širším spektru neuplatňují (61, 62, 63, 64).

Diskuze

Poruchy autistického spektra (PAS) jsou závažná neurovývojová onemocnění, která narušují schopnosti sociální interakce, komunikace a představitivosti u pacientů (1, 2, 3, 4). Diagnostika PAS využívá nástrojů