



Epigenetika v patogenéze neurovývojových ochorení: od vývojovej biológie k moderným diagnostickým prístupom

RNDr. Katarína Skalická, PhD., MPH

Laboratórium klinickej a molekulovej genetiky Detskej kliniky LF UK a NÚDCH, Bratislava

Epigenetická regulácia predstavuje jeden z kľúčových mechanizmov podieľajúcich sa na vzniku a patogenéze neurovývojových ochorení. Keďže epigenetika riadi časovú a tkanivovo špecifickú génovú expresiu bez zmeny primárnej sekvencie DNA, jej narušenie počas kritických období vývoja môže viesť k trvalým poruchám nervového systému. Správne nastavenie jednotlivých procesov prebieha už počas embryogenézy, a to prostredníctvom globálnej demetylácie a následne *de novo* metylácie. Narušenie týchto procesov môže viesť k poruchám diferenciácie, stability genómu a regulácie génovej expresie, čím sa vytvára biologický základ pre vznik neurovývojových ochorení. Významnú úlohu zohrávajú aj faktory zasahujúce do vývoja epigenómu počas prenatálneho aj postnatálneho obdobia, najmä v kontexte dozrievania neurónov, synaptickej plasticity a predĺženej maturácie mozgovej kôry. Epigenetické zmeny v týchto kritických obdobiach môžu viesť k trvalým poruchám regulácie génovej expresie a prispieť k rozvoju neurovývojových porúch. Moderné diagnostické prístupy založené na analýze episignatúr ako funkčných biomarkerov a 5-bázového genómu umožňujúceho simultánnu detekciu genetickej a epigenetickej informácie poskytujú nový nástroj na presnejšie molekulárne objasnenie patogenézy neurovývojových ochorení.

Kľúčové slová: epigenetika, metylácia DNA, neurovývojové ochorenia, episignatúra, 5-bázový genóm

Epigenetics in the pathogenesis of neurodevelopmental disorders: From developmental biology to modern diagnostic approaches

Epigenetic regulation represents one of the key mechanisms involved in the development and pathogenesis of neurodevelopmental disorders. As epigenetics governs temporal and tissue-specific gene expression without altering the primary DNA sequence, its disruption during critical periods of development may lead to persistent neurodevelopmental impairments. Proper establishment of these mechanisms occurs already during embryogenesis through global demethylation followed by *de novo* methylation. Disruption of these processes may result in impaired cellular differentiation, genomic instability, and dysregulation of gene expression, thereby creating a biological basis for the emergence of neurodevelopmental disorders. Important roles are also played by factors influencing epigenome development during both prenatal and postnatal periods, particularly in the context of neuronal maturation, synaptic plasticity, and prolonged cortical maturation. Epigenetic alterations during these critical developmental windows may lead to prolonged disturbances in gene regulation and contribute to the development of neurodevelopmental disorders. Modern diagnostic approaches based on analysis of episignatures as functional biomarkers, and the 5-base genome enabling the simultaneous detection of genetic and epigenetic information, provides a novel tool for more precise molecular elucidation of the pathogenesis of neurodevelopmental disorders.

Key words: epigenetics, DNA methylation, neurodevelopmental disorders, episignature, 5-base genome

Lek. genet. diagn., 2026;3(1): 10-16

■ ÚVOD – HISTORICKÝ KONTEXT EPIGENETIKY

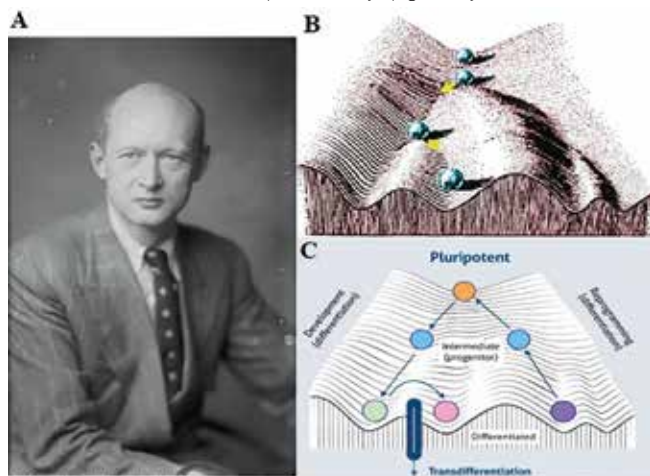
Termín epigenetika zaviedol v roku 1942 britský vývojový biológ Conrad Hal Waddington (1). V období, keď molekulárna podstata dedičnosti ešte nebola objasnená, sa Waddington snažil vysvetliť, ako sa genetická informácia počas embryonálneho vývoja organizuje do stabilných fenotypových znakov. Jeho ikonický koncept tzv. epigenetickej krajiny (epigenetic landscape) predstavoval metaforu vývoja bunky ako guľôčky kotúľajúcej sa po reliéfe kopcov a dolín. Tvar krajiny symbolizoval genetickú reguláciu, zatiaľ čo jednotlivé dráhy predstavovali možné vývinové trajektórie vedúce k špecializovaným bunkovým typom. Tento model zdôrazňoval, že vývoj nie je lineárnym čítaním genetického kódu, ale dynamickým procesom regulácie génovej aktivity (obrázok 1).

Z dnešného pohľadu je pozoruhodné, že Waddington formuloval svoj koncept niekoľko rokov pred objavom dvojzávitnicovej štruktúry DNA a desaťročia pred identifikáciou konkrétnych molekulárnych mechanizmov epigenetickej regulácie. V čase, keď neexistovali poznatky o epigenetických

mechanizmoch, intuitívne predpokladal existenciu regulačnej vrstvy, ktorá sprostredkúva prechod medzi genotypom a fenotypom.

Moderná molekulárna biológia neskôr ukázala, že „reliéf krajiny“, ktorý Waddington metaforicky opisoval, je formovaný komplexnou sieťou epigenetických značiek – metyláciou DNA, posttranslačnými modifikáciami histónov, trojrozmernou organizáciou chromatinu a regulačnými RNA molekulami. Tieto mechanizmy dnes vieme experimentálne merať, modifikovať a v klinickom kontexte aj diagnosticky využiť. Waddingtonov model tak predstavuje jeden z prvých pokusov o systémové chápanie génovej regulácie, ktorý predbehol molekulárne objavy druhej polovice 20. storočia. Jeho koncepcia zdôrazňovala, že genetická informácia sama o sebe neurčuje výsledný fenotyp rigidne, ale že jej realizácia závisí od dynamickej regulačnej architektúry – dnes označovanej ako **epigenóm**.

V pôvodnom ponímaní vychádzala predpona „epi“ zo slova epigenéza a označovala procesy súvisiace s vývojom organizmu. Moderné chápanie epigenetiky sa formovalo až v druhej

Obrázok 1. Historické a koncepčné základy epigenetiky


(A) Conrad Hal Waddington (1905 – 1975) (13) a jeho koncept epigenetickej krajiny (B), ktorý ilustruje, že vývoj bunky nie je deterministickým čítaním génovej informácie, ale dynamickým procesom regulácie génovej aktivity, ktorý je dnes molekulárne vysvetlený prostredníctvom epigenetických mechanizmov (1). (C) Waddingtonova epigenetická krajina ako model vývinovej plasticity, kde pluripotentná bunka postupne nadobúda špecifickú bunkovú identitu plasticity v závislosti od regulačných mechanizmov, pričom diferenciácia je výsledkom stabilizácie génovej expresie (14).

polovici 20. storočia, najmä po objavení metylácie DNA ako stabilného regulačného mechanizmu génovej expresie. Dnes slovo epigenetika označuje súbor procesov, ktoré menia génovú expresiu bez zásahu do primárnej sekvencie DNA. Predpona „epi“ tak nadobudla nový význam – niečo „nad genómom“, teda regulačnú vrstvu, ktorá moduluje genetickú informáciu (2).

V kontexte neurovývoja zohráva epigenetika kľúčovú úlohu. Mozog je orgán s mimoriadne komplexnou regulačnou dynamikou, kde jemné odchýlky v epigenetickom nastavení môžu viesť k zásadným funkčným dôsledkom. Neurovývoj je proces, ktorý je presne regulovaný v čase aj v priestore a vyžaduje koordinovanú aktiváciu a utlmenie tisícov génov. Epigenetika tak predstavuje kľúčový mechanizmus, ktorý

umožňuje prechod od genetickej informácie k funkčnému mozgu. Poskytuje tak konceptuálny most medzi vývojovou biológiou, genetikou a klinickou neurovedou.

■ METYLÁCIA DNA A JEJ VÝZNAM V EMBRYOGENÉZE

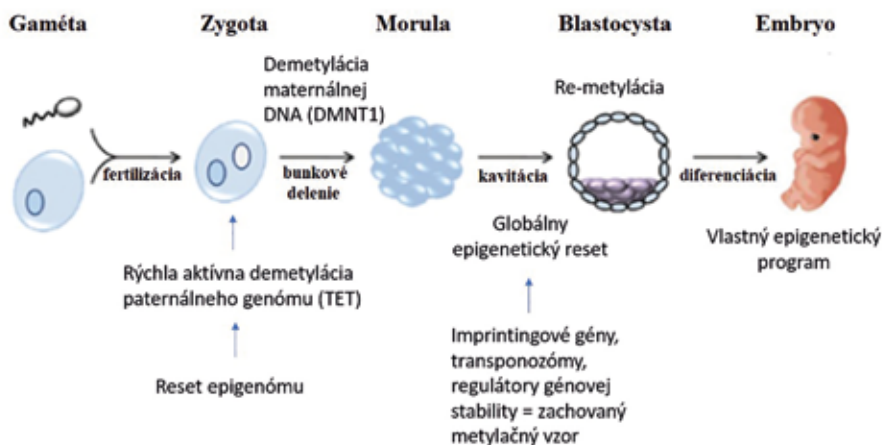
Metylácia DNA predstavuje kľúčový epigenetický mechanizmus regulácie génovej expresie u cicavcov. Ide o kovalentnú modifikáciu cytozínu na 5. uhlíku pyrimidínového kruhu za vzniku 5-metylcytozínu (5mC), pričom metylácia prebieha prevažne na CpG dinukleotidoch. CpG miesta sú nerovnomerne distribuované v genóme a často tvoria tzv. CpG ostrovnice, ktoré sú obohatené v promótorových oblastiach génov. Metylácia promótorov je vo všeobecnosti spojená s transkripciou represiou, zatiaľ čo nemetylovaný promótor umožňuje aktívnu génovú expresiu.

Metyláciu DNA zabezpečujú DNA metyltransferázy (DNMT). DNMT3A a DNMT3B sú zodpovedné za *de novo* metyláciu, teda zavádzanie nových metylačných značiek počas vývoja a diferenciácie. DNMT1 plní funkciu udržiavacej metyltransferázy – počas replikácie rozpoznáva hemimetylovanú DNA a dopĺňa metyláciu na novo syntetizované vlákno, čím zabezpečuje prenos epigenetickej informácie do dcérskych buniek. Tento mechanizmus je základom epigenetickej pamäti a stability bunkovej identity.

Dlhodobu sa predpokladalo, že metylácia DNA predstavuje relatívne stabilnú značku. Výskum posledných dvoch dekád však ukázal, že ide o dynamický proces. Aktívna demetylácia je sprostredkovaná enzýmami rodiny TET (TET1, TET2, TET3), ktoré oxidujú 5-metylcytozín na 5-hydroxymetylcytozín a ďalšie intermediáty, ktoré môžu byť následne odstránené mechanizmami excízynej opravy DNA. Táto dynamika je zásadná najmä počas embryonálneho vývoja (3).

Embryogenéza je charakterizovaná dvoma globálnymi vlnami epigenetického preprogramovania (obrázok 2). Prvá prebieha bezprostredne po oplodnení a druhá počas vývoja primordiálnych zárodočných buniek. Pre pochopenie patogenézy vývojových porúch, vrátane neurovývojových ochorení, je kľúčová práve prvá vlna.

Obrázok 2. Epigenetické preprogramovanie DNA metylácie počas skorého embryonálneho vývoja (prevzaté a upravené z <https://epigenie.com/epigenie-learning-center/epigenetics/epigenetic-regulation/> (15)). Po fertilizácii dochádza k rýchlej aktívnej demetylácii paternálneho genómu sprostredkovanvej TET enzýmami a paralelnej pasívnej demetylácii maternálneho genómu počas prvých bunkových delení. Globálny pokles metylácie je zachovaný až do štádia blastocysty, pričom imprintingové kontrolné oblasti a vybrané repetitívne sekvencie zostávajú chránené. Následná *de novo* remetylácia sprostredkovaná DNMT3A/3B vedie k vytvoreniu embryonálneho špecifického epigenetického programu.





Po fertilizácii dochádza k výraznej asymetrii medzi paternálnym a maternálnym genómom. Paternálny genóm, ktorý je v spermii silne kondenzovaný a asociovaný s protamínmi, podlieha rýchlej chromatinovej prestavbe – protamíny sú nahradené histónmi. Paralelne prebieha aktívna demetylácia sprostredkovaná predovšetkým enzýmom TET3. Tento proces vedie k rýchlemu poklesu globálnej metylácie paternálneho genómu ešte pred prvým delením zygoty.

Maternálny genóm sa demetyluje pomalšie a prevažne pasívne, počas niekoľkých embryonálnych delení. Tento proces súvisí s dočasným obmedzením funkcie DNMT1 v skorom embryu, čo vedie k postupnému „riedeniu“ metylačných značiek pri replikácii DNA.

Výsledkom je globálny pokles metylácie v preimplantačnom štádiu blastocysty, ktorý umožňuje návrat buniek do pluripotentného stavu. Tento epigenetický reset je nevyhnutný pre obnovenie vývinovej plasticity a následnú diferenciáciu do všetkých bunkových línií. Ak by epigenetický reset neprebehol, embryo by si „nieslo“ metylačné obmedzenia gamét a stratilo by schopnosť pluripotencie a správnej diferenciácie. Globálna demetylácia však nie je absolútna. Určité oblasti genómu musia zostať chránené, aby sa zachovala rodičovsky špecifická expresia génov a stabilita genómu. Medzi tieto oblasti patria imprintingové kontrolné regióny, niektoré transpozónové sekvencie a regulačné oblasti súvisiace s genómovou stabilitou (4).

Ochrana imprintingu je sprostredkovaná komplexnou sieťou faktorov, ktoré zabráňujú demetylácii špecifických oblastí počas globálneho resetu. Porucha týchto mechanizmov môže viesť k multilokusovým imprintingovým poruchám a závažným vývojovým syndrómom.

Po fáze globálnej demetylácie nasleduje postupná *de novo* metylácia, sprostredkovaná najmä DNMT3A a DNMT3B. Tento proces vedie k vytvoreniu nového, embryonálne špecifického metylačného profilu, ktorý umožňuje stabilnú diferenciáciu jednotlivých bunkových línií (4).

Tkanivovo špecifické metylačné vzory vznikajú postupne počas gastrulácie a organogenézy. Mozog a nervový systém patria medzi tkanivá, ktoré vznikajú na základe extrémne presného časovania diferenciácie, migrácie a dozrievania buniek. Preto aj relatívne malé odchýlky v metylačných programoch v skorých štádiách embryogenézy môžu mať neskôr dôsledky v neurovývoji – buď priamo (zmenou exprese génov), alebo nepriamo (zmenou stability genómu či imprintingu).

EPIGENETIKA V PRENATÁLNOB ODPOBÍ: KRITICKÉ OKNO PRE NEUROVÝVOJ

Prenatálne obdobie predstavuje jedno z najcitlivejších vývinových okien z hľadiska epigenetickej regulácie. Po globálnom epigenetickom preprogramovaní v preimplantačnom štádiu dochádza počas organogenézy a fetálneho vývoja k postupnej stabilizácii tkanivovo špecifických metylačných vzorov. Napriek tomu však epigenóm zostáva vysoko plastický a reaguje na vnútorné aj vonkajšie podnety. Táto plasticita umožňuje adaptáciu vyvíjajúceho sa organizmu na podmienky intrauterinného prostredia, no zároveň vytvára zraniteľnosť voči nepriaznivým expozíciám. Intrauterinné prostredie zohráva zásadnú úlohu v programovaní neurovývoja

(5). Rastúci počet dôkazov poukazuje na to, že nepriaznivé prenatálne expozície – vrátane psychologického stresu matky, infekcií, nutričnej nerovnováhy či environmentálnych toxínov – môžu prostredníctvom epigenetických mechanizmov modulovať expresiu génov kľúčových pre vývoj mozgu a zvyšovať riziko neurovývojových a psychiatrických porúch v neskoršom živote (6).

Materský stres a neuroendokrinné dráhy

Psychologický stres počas gravidity vedie k aktivácii osi hypotalamus–hypofýza–nadobličky (HPA) a zvýšenej produkcii glukokortikoidov, najmä kortizolu. Kortizol je schopný prechádzať placentárnou bariérou, pričom jeho zvýšené hladiny môžu modifikovať expresiu génov zapojených do regulácie stresovej odpovede, neurogenézy a synaptickej plasticity.

Epigenetické štúdie preukázali, že prenatálna expozícia zvýšeným hladinám glukokortikoidov môže viesť k zmenám metylácie génov ako *NR3C1* (glukokortikoidový receptor), *FKBP5* a ďalších regulačných faktorov osi HPA. Tieto zmeny môžu perzistovať postnatálne a ovplyvňovať reaktivitu stresového systému dieťaťa, čím sa zvyšuje riziko úzkostných porúch, depresie či porúch správania.

Prenatálne infekcie a zápal

Materské infekcie predstavujú ďalší významný rizikový faktor. Aktivácia imunitného systému vedie k zvýšenej produkcii prozápalových cytokínov (napr. IL-6, TNF- α), ktoré môžu prechádzať placentou alebo ovplyvňovať placentárnu signalizáciu. Zápalové mediátory aktivujú intracelulárne signálne kaskády (napr. NF- κ B), ktoré modulujú aktivitu epigenetických enzýmov vrátane DNMT a histónových acetyltransferáz.

Experimentálne modely ukazujú, že prenatálna imunitná aktivácia môže viesť k zmenám metylácie génov regulujúcich synaptogenézu, migráciu neurónov a vývoj interneurónových sietí. Tieto zmeny sú asociované so zvýšeným rizikom porúch autistického spektra a schizofrénie v dospelosti.

Nutričné faktory a metabolizmus jednouchlíkového cyklu

Výživa počas gravidity priamo ovplyvňuje dostupnosť metylových skupín potrebných pre metyláciu DNA. Jednouchlíkový metabolizmus, zahŕňajúci folát, vitamín B12, metionín a cholín, zabezpečuje tvorbu S-adenozylmetionínu (SAM), hlavného donora metylových skupín. Nedostatok folátu alebo iných kofaktorov môže viesť k poruchám metylácie DNA v kritických regulačných oblastiach genómu. Epidemiologické a experimentálne štúdie preukázali súvislosť medzi nutričnými deficitmi a zmenami epigenetických vzorov v génoch regulujúcich neurogenézu a axonálnu navigáciu. Tieto mechanizmy môžu prispievať k vzniku neurovývojových porúch vrátane porúch kognitívnych funkcií.

Environmentálne toxíny a epigenetická toxicita

Expozícia toxickým látkam, ako sú ťažké kovy, pesticídy, alkohol či tabakový dym, môže indukovať epigenetické zmeny prostredníctvom oxidačného stresu, narušenia redoxnej rovnováhy a modifikácie enzymatickej aktivity DNMT a TET enzýmov. Napríklad prenatálna expozícia alkoholu je spo-

jená so zmenami metylácie génov regulujúcich neurálnu migráciu a synaptickú plasticitu, čo predstavuje jeden z mechanizmov porúch fetálneho alkoholového spektra (FASD). Podobne fajčenie matky počas gravidity je asociované so špecifickými epigenetickými signatúrami identifikovateľnými v pučovníkovej krvi novorodencov.

■ Kritické obdobia a časová špecifická expozícia

Dôležitým aspektom prenatalného epigenetického programovania je načasovanie expozície. Neurovývoj prebieha v presne definovaných etapách – proliferácia neurálnych progenitorov, migrácia neurónov, diferenciácia, synaptogenéza – pričom každá z týchto fáz je regulovaná špecifickými transkripčnými a epigenetickými programami. Expozícia v období intenzívnej neurogenézy môže mať odlišné dôsledky než expozícia počas synaptogenézy. Epigenetické zmeny vzniknuté počas kritických období môžu mať trvalý charakter, pretože sa stabilizujú prostredníctvom udržiavacej metylácie a prenášajú sa do ďalších bunkových generácií.

Prenatálne epigenetické zmeny nepredstavujú izolovaný jav, ale vytvárajú biologický substrát pre interakciu genetickej vulnerability a environmentálnych faktorov. U jedincov s genetickou predispozíciou môžu nepriaznivé prenatálne expozície viesť k epigenetickej dysregulácii génových sietí regulujúcich synaptickú plasticitu, inhibično-excitačnú rovnováhu a maturáciu kortikálnych obvodov. Tým sa zvyšuje riziko porúch autistického spektra, ADHD, porúch učenia či afektívnych porúch (6).

■ EPIGENÓM A POSTNATÁLNY VÝVOJ MOZGU

Epigenóm centrálneho nervového systému nie je plne etablovaný v prenatalnom období. Naopak, jeho dozrievanie pokračuje aj po narodení a paralelne kopíruje kľúčové procesy postnatálneho neurovývoja – maturáciu neurónov, rast axónov a dendritov, synaptogenézu, myelinizáciu a následné synaptické prerezávanie. Postnatálne obdobie tak predstavuje fázu, v ktorej epigenetické mechanizmy nielen stabilizujú bunkovú identitu, ale aktívne regulujú génové programy potrebné pre formovanie a funkčné dozrievanie neurónových obvodov.

Napriek tomu, že väčšina neurónov je po diferenciácii postmitotická, ich epigenetická architektúra zostáva dynamická. Tento poznatok viedol k etablovaniu pojmu neuroepigenetika, ktorý zdôrazňuje, že epigenetické mechanizmy v mozgu zohrávajú zásadnú úlohu nielen vo vývinovej diferenciácii, ale aj v regulácii synaptickej plasticity a adaptívnych zmien neurónových sietí (7).

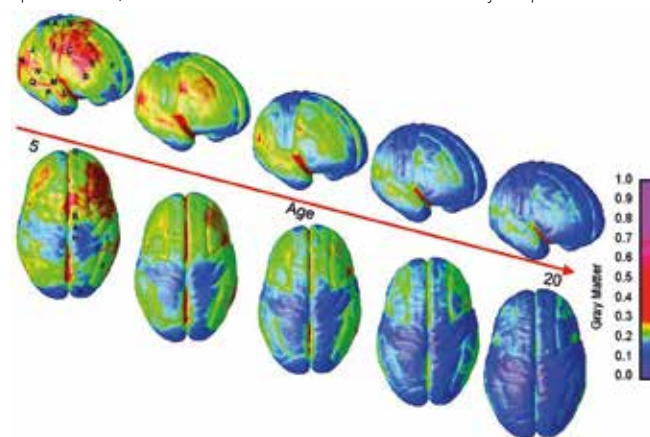
Z hľadiska metylácie DNA je pre neuróny charakteristická špecifická vývinová dynamika. Okrem klasickej metylácie cytozínu v CpG kontexte sa v priebehu postnatálneho dozrievania mozgu postupne akumuluje aj tzv. **non-CpG metylácia** (mCH; H = A, C alebo T). Ide stále o metyláciu cytozínu, avšak mimo CpG dinukleotidov, najčastejšie v kontexte CpA. Táto neurónovo špecifická metylačná vrstva narastá najmä počas detstva a adolescencie a je spájaná s reguláciou génov podieľajúcich sa na synaptickej funkcii, excitabilite neurónov a stabilizácii neurónových obvodov. Jej akumulácia predstavuje jeden z molekulárnych znakov dozrievania neurónov (8).

Metylácia DNA v mozgu neplní len „tichú“ udržiavaciu funkciu, ale je prepojená so systémami, ktoré interpretujú epigenetické značky a premieňajú ich na funkčný výstup. Významným príkladom je proteín MeCP2, ktorý viaže metylované cytozíny a moduluje chromatinovú štruktúru aj transkripciu. Poruchy tejto regulačnej osi vedú k závažným neurovývojovým fenotypom, čo poukazuje na to, že správne čítanie metylačných značiek je rovnako dôležité ako ich samotné vytváranie. Zmeny v epigenetickom nastavení môžu preto zásadne ovplyvniť reguláciu génov riadiacich synaptogenézu, neurónovú plasticitu a funkčné prepojenia mozgových oblastí.

Postnatálne epigenetické zmeny prebiehajú nelineárne a pokračujú až do obdobia dospievania. Vývinové trajektórie metylácie DNA preukazujú postupné a časovo špecifické úpravy regulačných oblastí genómu, ktoré súvisia s maturáciou nervového systému. Adolescencia predstavuje obdobie výraznej reorganizácie neurónových obvodov, vrátane intenzívneho synaptického prerezávania a dozrievania prefrontálnej kôry. Maturácia tejto oblasti, ktorá je zodpovedná za exekutívne funkcie, reguláciu správania a emocionálne spracovanie, prebieha prevažne počas adolescencie a pokračuje do ranej dospelosti (obrázok 3). Tento predĺžený vývin vytvára obdobie zvýšenej citlivosti na environmentálne vplyvy, ktoré môžu moduluovať epigenetické regulačné mechanizmy.

Dynamický charakter postnatálneho epigenómu zároveň znamená, že negatívne environmentálne faktory – vrátane chronického stresu, traumatických skúseností, zanedbávania alebo toxických expozícií – môžu interferovať s dozrievaním neurónových obvodov prostredníctvom epigenetických zmien. Hoci kauzálne mechanizmy u človeka nemožno vždy jednoznačne preukázať, dostupné dôkazy podporujú koncept, že epigenetická regulácia predstavuje biologický most medzi vývinom mozgu a prostredím (8).

Obrázok 3. Dynamické mapovanie kortikálnej maturácie od detstva po ranú dospelosť, prevzaté z Gogtay et al., 2004 (16). Schéma ilustruje, že vývoj mozgu pokračuje aj po narodení a že obdobie dospievania predstavuje významnú fázu reorganizácie neurónových obvodov. Farebné MRI mapy zobrazujú postupnú maturáciu mozgovej kôry medzi 5. a 20. rokom života. Farebná škála reprezentuje relatívnu hrúbku a stupeň dozrievania sivej hmoty, pričom teplejšie farby (červená, žltá) označujú menej vyzreté oblasti a chladnejšie farby (zelená, modrá) vyzretejšiu kortikálnu štruktúru. Proces maturácie prebieha postupne v posterio-anteriórnom smere – senzorické a parietálne oblasti dozrievajú skôr, zatiaľ čo prefrontálna kôra, zodpovedná za exekutívne funkcie, reguláciu správania a emocionálne spracovanie, dozrieva až v období adolescencie a ranej dospelosti.





■ NEUROVÝVOJOVÉ PORUCHY V KONTEXTE EPIGENETIKY

Neurovývojové poruchy predstavujú heterogénnu skupinu ochorení s nástupom vo vývinovom období, ktoré vedú k pretrvávajúcim deficitom v osobnej, akademickej a sociálnej oblasti. Podľa klasifikácie DSM-5 zahŕňajú intelektové poruchy, poruchy komunikácie, poruchu autistického spektra, ADHD, špecifické poruchy učenia a motorické poruchy vrátane tikových porúch.

V klinickej praxi sa jednotlivé neurovývojové poruchy len zriedkavo vyskytujú izolovane. Častejší je ich prekryv a komorbidita, čo odráža zdieľané biologické mechanizmy – najmä dysreguláciu génových sietí riadiacich synaptickú funkciu, chromatinovú reguláciu a neurónovú excitabilitu. Významnou komorbiditou je epilepsia, ktorá sa v niektorých podskupinách pacientov vyskytuje so zvýšenou frekvenciou. Táto súvislosť poukazuje na to, že genetické a epigenetické mechanizmy ovplyvňujúce vývoj neurónových obvodov môžu súčasne modulovať aj prah citlivosti na vznik epilepsie. Z pohľadu vývojovej neurobiológie je dôležité, že mozog sa vyvíja a reorganizuje až do ranej dospelosti. V dôsledku tejto predĺženej maturácie môže dochádzať k určitej modifikácii klinických prejavov niektorých neurovývojových porúch počas dospievania, avšak väčšina z nich pretrváva do dospelosti a predstavuje celoživotné ochorenie (9).

■ DIAGNOSTICKÉ PRÍSTUPY V EPIGENETIKE NEUROVÝVOJOVÝCH PORÚCH

■ Episignatúry ako funkčný biomarker

Rozvoj poznatkov o úlohe epigenetickej regulácie v patogeneze neurovývojových porúch prirodzene viedol k otázke, či je možné tieto zmeny využiť aj diagnosticky. Kým klasické genetické vyšetrenia identifikujú sekvenčné varianty alebo štrukturálne prestavby genómu, epigenetická analýza umožňuje zachytiť funkčný dôsledok narušenej regulácie chromatinu. V tomto kontexte sa v poslednom desaťročí etabloval koncept tzv. **episignatúr** – špecifických vzorov metylácie DNA charakteristických pre konkrétny genetický syndróm (10).

Episignatúra predstavuje reprodukovateľný a konzistentný metylačný profil pozostávajúci zo zmien v stovkách až tisícoch CpG miest naprieč genómom. Nevzniká ako dôsledok jednej izolovanej epigenetickej udalosti, ale ako systémový odraz dysregulácie epigenetického aparátu. Najčastejšie sa identifikuje pri ochoreniach spôsobených patogénnymi variantmi v génoch regulujúcich chromatin – teda v génoch kódujúcich „writers“ (enzýmy pridávajúce epigenetické značky napr. DNMT, histónové metyltransferázy), „erasers“ (enzýmy odstraňujúce značky), „readers“ (proteíny rozpoznávajúce epigenetické modifikácie) alebo remodelačné komplexy chromatinu (proteíny ovplyvňujúce samotnú štruktúru chromatinu). Porucha týchto proteínov vedie ku globálnej alebo lokálnej deregulácii génovej expresie, ktorá sa sekundárne prejaví ako špecifický metylačný vzor detegovateľný aj v periférnej krvi.

Zásadným poznatkom bolo, že mnohé syndrómy patriace medzi tzv. chromatinopatie alebo neurovývojové poruchy s intelektovým postihnutím vykazujú unikátne **episignatúry**. Tieto metylačné „fingerprinty“ sú dostatočne špecifické

na to, aby umožnili rozlíšiť klinicky prekrývajúce sa jednotky na molekulárnej úrovni. Episignatúra teda nepredstavuje jeden biomarker, ale multidimenzionálny epigenetický profil hodnotený pomocou štatistických a strojovo-učiacich sa algoritmov.

V klinickej praxi sa detekcia episignatúr realizuje najčastejšie pomocou vysoko denzitných metylačných mikročipov, ako je napríklad platforma Illumina Infinium MethylationEPIC (850K), ktorá analyzuje viac ako 850 000 CpG miest naprieč genómom. Genomická DNA je podrobená bisulfidovej konverzii, ktorá umožňuje rozlíšiť metylovaný a nemetylovaný cytozín, následne sa hybridizuje na čip a kvantifikuje sa fluorescenčný signál reprezentujúci stupeň metylácie jednotlivých CpG miest. Výsledný metylačný profil sa porovnáva s referenčnými databázami pacientov so známymi episignatúrami pomocou validovaných klasifikačných modelov. Výstupom je skóre zhody so špecifickým syndrómom alebo informácia o neprítomnosti známeho metylačného vzoru (10).

Klinický význam episignatúr je viacrozmerný. Mimoriadne cenné je ich využitie pri reklasifikácii variantov nejasného významu (VUS), najmä ak sa nachádzajú v génoch epigenetického aparátu. Prítomnosť zodpovedajúcej episignatúry poskytuje funkčný dôkaz biologického vplyvu variantu a môže viesť k jeho prehodnoteniu ako patogénneho. Episignatúry zároveň napomáhajú diferenciálnej diagnostike fenotypovo podobných syndrómov, ktoré sa na úrovni klinického obrazu nedajú jednoznačne odlíšiť. Ďalšou oblasťou využitia je diagnostika imprintingových porúch a vybraných genómových syndrómov, kde je primárnym patologickým mechanizmom epigenetická dysregulácia.

Dôležité je však zdôrazniť, že episignatúra je sekundárnym dôsledkom genetickej alebo regulačnej poruchy. Nejde o náhradu sekvenačných metód, ale o ich funkčný doplnok. V diagnostickom algoritme preto predstavuje komplementárny nástroj, ktorý zvyšuje diagnostickú výťažnosť najmä u pacientov s negatívnym alebo nejednoznačným výsledkom exómového sekvenovania (11).

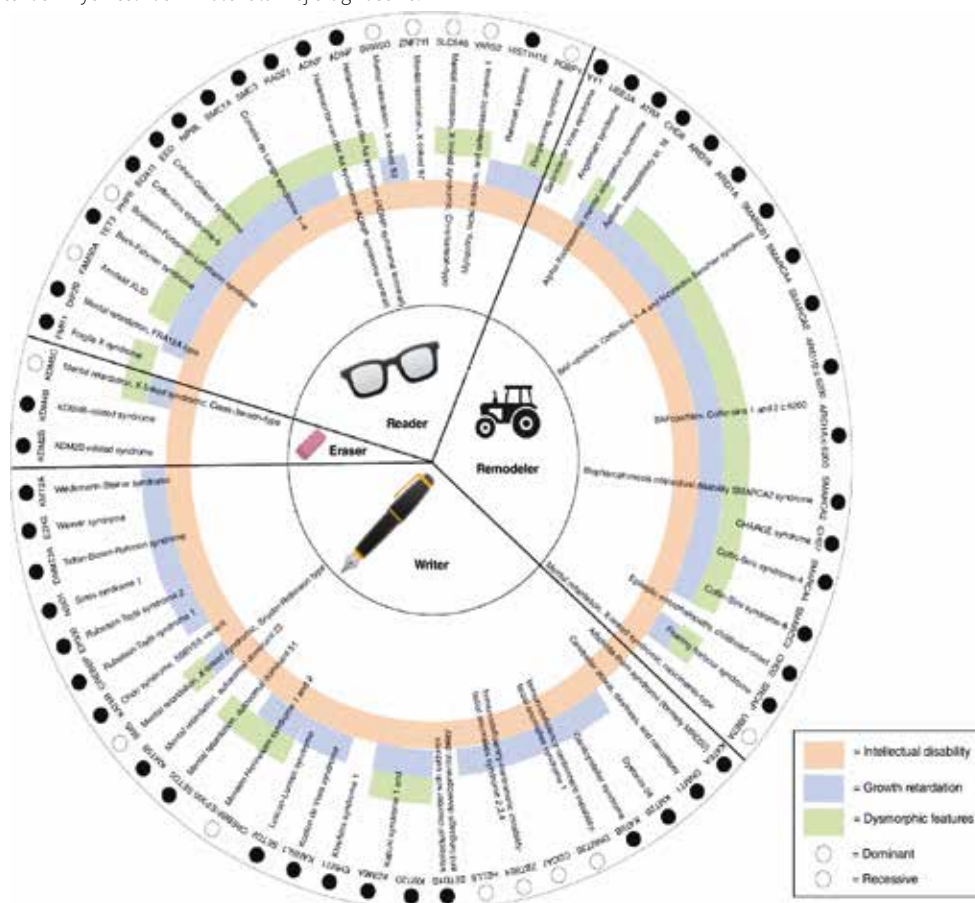
Zavedenie episignatúr do klinickej praxe predstavuje významný posun od čisto sekvenačnej analýzy k funkčnej genomike. Umožňuje lepšie pochopiť biologický vplyv variantov v génoch regulujúcich chromatin a poskytuje premostenie medzi genotypom a fenotypom. V kontexte neurovývojových porúch tak epigenetická diagnostika rozširuje tradičný genetický rámec o ďalšiu regulačnú dimenziu, ktorá je kľúčová pre správne nastavenie vývinových programov mozgu.

■ 5-bázový genóm: priama detekcia DNA metylácie v klinickej praxi

Kým analýza episignatúr predstavuje nepriamy dôkaz epigenetickej dysregulácie na úrovni genómovej metylácie, technologický pokrok posledných rokov umožnil metyláciu DNA hodnotiť priamo počas sekvenovania. Tento prístup sa označuje ako koncept tzv. 5-bázového genómu, ktorý rozširuje klasické chápanie genómu pozostávajúceho zo štyroch nukleotidov (A, T, G, C) o epigeneticky modifikovaný cytozín – 5-metylcytozín (5mC).

V tradičných sekvenačných metódach založených na amplifikácii DNA nie je možné priamo rozlíšiť metylovaný a ne-

Obrázok 4. Spektrum génov epigenetického aparátu asociovaných s neurovývojovými poruchami a ich klinickými fenotypmi, prevzaté z van der Laan L et al., 2022 (17). Schéma ilustruje, že významná časť neurovývojových ochorení je spôsobená poruchou proteínov zapojených do regulácie chromatinu. Dysfunkcia týchto regulačných mechanizmov vedie k systémovým zmenám génovej expresie a môže byť sprevádzaná charakteristickým metylačným profilom – episignatúrou – využiteľnou v molekulárnej diagnostike.



Kruhová schéma znázorňuje gény regulujúce epigenetický aparát, ktorých patogénne varianty sú asociované s neurovývojovými poruchami (NDD). Centrálna časť diagramu rozdeľuje proteíny podľa ich funkčnej úlohy v epigenetickej regulácii na „writers“ (enzýmy pridávajúce epigenetické značky), „erasers“ (enzýmy odstraňujúce modifikácie), „readers“ (proteíny rozpoznávajúce epigenetické značky) a „chromatin remodelers“ (komplexy meniace štruktúru chromatinu). Vonkajšie kruhové pásy zobrazujú jednotlivé gény a ich asociované klinické fenotypy. Farebné segmenty indikujú prítomnosť hlavných klinických znakov, ako sú intelektové postihnutie, porucha rastu a dysmorfické črty. Symboly v periférnej časti označujú spôsob dedičnosti (autozómovo dominantný alebo recesívny).

metylovaný cytozín bez predchádzajúcej chemickej úpravy (napr. bisulfidovej konverzie). Moderné sekvenčné platformy tretej generácie, ako sú single-molecule real-time (SMRT) sekvenovanie alebo nanopórové sekvenovanie, však dokážu detegovať epigenetické modifikácie priamo na úrovni jednej molekuly DNA bez potreby chemickej konverzie (12).

Pri nanopórovom sekvenovaní jednotlivé molekuly DNA prechádzajú cez pórovitú membránu, pričom zmeny elektrického prúdu umožňujú identifikovať nielen sekvenciu nukleotidov, ale aj prítomnosť metylácie. V prípade SMRT sekvenovania je metylácia rozpoznávaná na základe zmien kinetiky inkorporácie nukleotidov. Tieto technológie tak umožňujú simultánne čítanie genetickej aj epigenetickej informácie z tej istej molekuly DNA.

Z klinického hľadiska má 5-bázový genóm viacero potenciálnych výhod. Umožňuje analýzu metylačného stavu v konkrétnych regulačných oblastiach, vrátane imprintingových centier, repetitívnych sekvencií alebo alelicky špecifickej metylácie. V kombinácii s detekciou sekvenčných variantov, štrukturálnych prestavieb a variácií počtu kópií poskytuje

komplexný pohľad na geneticko-epigenetickú architektúru ochorenia. Významný prínos sa očakáva najmä pri imprintingových poruchách, epigeneticky podmienených syndrónoch a komplexných neurovývojových ochoreniach, kde samotná sekvenčná analýza nemusí postačovať na vysvetlenie fenotypu.

Ďalšou výhodou je možnosť haplotypovo špecifickej analýzy metylácie, teda rozlíšenia maternálnych a paternálnych alel, čo je kľúčové najmä pri imprintingových mechanizmoch. Pri dlhých sekvenčných čítaniach je možné priradiť metylačný profil ku konkrétnej alele bez nutnosti trio analýzy, ak sú prítomné heterozygotné polymorfizmy umožňujúce fázovanie (12).

Napriek technologickému pokroku však 5-bázový genóm zatiaľ nie je rutinnou súčasťou klinickej diagnostiky. Limitáciami sú vyššie náklady, potreba štandardizovaných bioinformatických pipeline a stále sa vyvíjajúce validačné rámce. Očakáva sa však, že s postupným znižovaním nákladov a zvyšovaním presnosti sa priame čítanie metylácie stane významnou súčasťou komplexného genomického vyšetrenia.



Koncept 5-bázového genómu predstavuje logické vyústenie vývoja v oblasti epigenetiky: od teoretického modelu vývojovej regulácie, cez identifikáciu syndrómovo špecifických episignatúr až po priame sekvenčné čítanie epigenetickej informácie. Integrácia genetických a epigenetických dát tak smeruje k precíznejšej diagnostike a hlbšiemu pochopeniu molekulárnych mechanizmov neurovývojových porúch.

ZÁVER

Epigenetické mechanizmy predstavujú zásadnú regulačnú vrstvu vývoja ľudského organizmu a zohrávajú kľúčovú úlohu pri formovaní a dozrievaní centrálného nervového systému. Dynamika epigenómu počas embryonálneho, perinatálneho aj postnatálneho obdobia vysvetľuje citlivosť neurovývoja na genetické aj environmentálne vplyvy. Poruchy génov regulujúcich epigenetický aparát vedú k širokému spektru neurovývojových ochorení, ktorých molekulárny základ dnes vieme

zachytiť nielen sekvenovaním DNA, ale aj analýzou charakteristických metylačných vzorov. Zavedenie episignatúr do klinickej praxe významne zvyšuje diagnostickú výťažnosť genetických vyšetrení a umožňuje presnejšiu interpretáciu variantov. Rozvoj technológií umožňujúcich analýzu 5-bázového genómu naznačuje, že budúcnosť molekulárnej diagnostiky bude integrovať genetickú a epigenetickú informáciu do jedného komplexného vyšetrenia, čím sa posunieme bližšie k skutočne personalizovanej medicíne.

Autorka článku čestne vyhlasuje, že nemá žiadny potenciálny konflikt záujmov.

RNDr. Katarína Skalická, PhD., MPH

Laboratórium klinickej a molekulovej genetiky

Detskej kliniky LF UK a NÚDCH

Limbová 1, 833 40 Bratislava

katarina.skalicka@nudch.eu

Literatúra

1. Waddington CH. Strategy of the genes. London: Allen & Unwin, 1957.
2. Meza-Menchaca T, Albores-Medina A, Heredia-Mendez AJ, et al. Revising epigenetics fundamentals and its biomedical implications. *Int J Mol Sci.* 2024;25(14):7927.
3. Smith ZD, Hetzel S, Meissner A. DNA methylation in mammalian development and disease. *Nat Rev Genet.* 2025;26(1):7-30.
4. Wilkinson AL, Zorzan I, Rugg-Gunn PJ. Epigenetic regulation of early human embryo development. *Cell Stem Cell.* 2023;30(12):1569-1584.
5. Kundu S, Maurer SV, Stevens HE. Future horizons for neurodevelopment disorders: placental mechanisms. *Front Pediatr.* 2021;9:653230.
6. Álvarez-Mejía D, Rodas JA, Leon-Rojas JE. From womb to mind: prenatal epigenetic influences on mental health disorders. *Int J Mol Sci.* 2025;26(13):6096.
7. Peña CJ. Epigenetic regulation of brain development, plasticity, and response to early-life stress. *Neuropsychopharmacology.* 2026;51(1):5-15.
8. Heffel MG, Zhou J, Zhang Y, et al. Temporally distinct 3D multi-omic dynamics in the developing human brain. *Nature.* 2024;635(8038):481-489.
9. Cainelli E, Bisiacchi P. Neurodevelopmental disorders: past, present, and future. *Children (Basel.)* 2022;10(1):31.
10. Giuili E, Grolaux R, Macedo CZN, et al. Comprehensive evaluation of the implementation of episignatures for diagnosis of neurodevelopmental disorders (NDDs). *Hum Genet.* 2023;142(12):1721-1735.
11. Husson T, Lecoquiere F, Nicolas G, et al. Episignatures in practice: Independent evaluation of published episignatures for the molecular diagnostics of ten neurodevelopmental disorders. *European Journal of Human Genetics.* 2024;32(2):190-199.
12. Sigurpalsdottir BD, Stefansson OA, Holley G, et al. A comparison of methods for detecting DNA methylation from long-read sequencing of human genomes. *Genome Biology.* 2024;25(1):69.
13. National Portrait Gallery, London. Conrad Hal Waddington, Photograph Collection NPG x188730. [online]. Dostupné na <https://www.npg.org.uk/collections/search/portrait/mw241129/Conrad-Hal-Waddington>
14. Takahashi K, Yamanaka S. A decade of transcription factor – mediated reprogramming to pluripotency. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2016;17(3):183-193.
15. Epigenie: The role of epigenetic marks during development. Epigenie Learning Centre [Internet]. [cited 2026, 19. february]. Available form: <https://epigenie.com/epigenie-learning-center/epigenetics/epigenetic-regulation/>
16. Gogtay N, Giedd JN, Lusk L et al. Dynamic mapping of human cortical development during childhood through early adulthood. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004;101(21):8174-8179.
17. van der Laan L, Rooney K, Trooster TM, et al. DNA methylation episignatures: insight into copy number variation. *Epigenomics.* 2022;14(21):1373-1388.