



Полякова Е.А.✉, Солнцева А.В., Белевцев М.В.

Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Беларусь

Неонатальный скрининг на первичные иммунодефициты: обоснование, возможности и перспективы

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: обзор литературы – Полякова Е.А.; концепция и дизайн исследования – Солнцева А.В.; редактирование – Белевцев М.В.

Подана: 29.03.2023

Принята: 12.09.2023

Контакты: polyakovakat86@gmail.com

Резюме

Основной целью неонатального скрининга новорожденных является раннее выявление бессимптомных младенцев с рядом тяжелых заболеваний, для которых доступно эффективное лечение и для которых ранняя диагностика и вмешательство предотвратят серьезные последствия. Тяжелая комбинированная иммунная недостаточность является врожденным нарушением иммунной функции, которая требует быстрой диагностики и лечения для предотвращения опасных для жизни инфекций, улучшения выживаемости и качества жизни. Отсутствие функциональных Т- и/или В-лимфоцитов при врожденных нарушениях иммунитета служит диагностическим критерием, который используют для скрининга новорожденных. К настоящему времени существует метод ранней диагностики, основанный на определении продуктов рекомбинации генов рецепторов Т- и В-лимфоцитов, который эффективен для выявления первичных иммунодефицитов. В настоящее время, по данным регистра первичных иммунодефицитов Республики Беларусь, зарегистрировано 22 пациента с тяжелой комбинированной иммунной недостаточностью, из них пяти пациентам выполнена трансплантация гемопоэтических стволовых клеток. 4/5 пациентов после трансплантации живы. Таким образом, частота встречаемости данной патологии составляет приблизительно 1 на 300 000, в сравнении с мировыми данными это свидетельствует о недовываемости тяжелой комбинированной иммунной недостаточности в связи с ранней младенческой смертностью. Для полномасштабного внедрения скрининга необходимо проведение пилотного исследования с установлением частоты встречаемости не более чем 1 на 50 000 новорожденных. В статье проведен анализ исследований, отражающих данные как о пилотных проектах, так и о полномасштабном неонатальном скрининге первичных иммунодефицитов в разных странах.

Ключевые слова: первичные иммунодефициты, ТКИН, неонатальный скрининг, TREC, KREC



Polyakova E.✉, Solntsava A., Belevtsev M.

Belarussian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology,
Minsk, Belarus

Neonatal Screening for Primary Immunodeficiency's: Rationale, Opportunities and Prospects

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: literature review – Polyakova E.; study concept and design – Solntsava A.; editing – Belevtsev M.

Submitted: 29.03.2023

Accepted: 12.09.2023

Contacts: polyakovakat86@gmail.com

Abstract

The main purpose of neonatal newborn screening is the early detection of asymptomatic infants with a number of severe diseases for which effective treatment is available and where early diagnosis and intervention prevent serious consequences. Severe combined immune deficiency is a congenital disorder of immune function that requires rapid diagnosis and treatment to prevent life-threatening infections, improve survival and quality of life. The absence of functional T- and/or B-lymphocytes of congenital immune disorders serves as a diagnostic criterion and can be used for screening newborns. There is a reliable and sensitive method for quantifying markers of T- and B-lymphocyte angiogenesis, which has proven effective in screening studies to identify primary immunodeficiency in the countries where they are conducted. To date, there is an early diagnostic method based on the determination of recombination products of T- and B-lymphocyte receptor genes, which is effective for detecting primary immunodeficiencies. Currently, according to the register of primary immunodeficiencies of the Republic of Belarus, 22 patients with severe combined immunodeficiency are registered, of which five patients underwent hematopoietic stem cell transplantation. Currently, 4/5 transplant patients are alive. Thus, the incidence of this pathology is approximately 1 in 300,000, in comparison with world data, this indicates the underdetection of SCID due to early infant mortality. And for the full implementation of screening, it is necessary to conduct a pilot study with the establishment of a frequency of occurrence of no more than 1 in 50,000 newborns. The article analyzes studies that reflect data from both pilot projects and full-scale neonatal screening for primary immunodeficiency's in different countries.

Keywords: primary immunodeficiencies, SCID, neonatal screening, TREC, KREC

■ ВВЕДЕНИЕ

Первичные иммунодефициты (ПИД) представляют собой гетерогенную группу врожденных нарушений иммунитета, приводящих к смертности детей с данным заболеванием в раннем возрасте [1, 2]. На сегодняшний день описано 485 генетических поломок, приводящих к ПИД [3]. Наиболее опасным, тяжелым, угрожающим жизни ребенка заболеванием является тяжелая комбинированная иммунная

недостаточность (ТКИН), которая проявляется недостатком Т-лимфоцитов. В-лимфоциты и НК-клетки могут отсутствовать в разной степени в зависимости от молекулярного дефекта [4, 5]. Как правило, дети с ТКИН рождаются здоровыми, т. е. без клинических признаков заболевания, однако уже к 2–3 месяцам жизни заболевание проявляется тяжелыми инфекциями, вплоть до генерализованных форм, порой с атипичным характером. Без ранней диагностики, а значит, своевременного лечения заболевание фатально и дети погибают на первом году жизни.

Распространенность и заболеваемость ПИД варьируются в зависимости от типа заболевания, возраста, пола, этнической принадлежности и географического положения.

Ранее считалось, что ПИД встречаются редко, а частота ТКИН была неизвестна. С тех пор перспективные программы скрининга позволили определить истинную заболеваемость ТКИН и для каждой страны она разная. Кроме того, скрининг способствовал выявлению и лечению младенцев, которые в противном случае умерли бы от осложнений невыявленного ТКИН. На основании исследований, проведенных в США, в ходе которых было обследовано более 3 миллионов младенцев, частота ТКИН оказалась намного выше, чем ожидалось, и составила 1/58 000, а частота клинически значимой Т-клеточной лимфопении составила 1/7300 [6]. Учитывая, что ПИД представляют собой большую и гетерогенную группу генетических заболеваний, которые по отдельности являются редкими состояниями, скрининг новорожденных предлагает дополнительные преимущества в ранней диагностике данной патологии.

■ ИСТОРИЯ СКРИНИНГА НОВОРОЖДЕННЫХ НА ПЕРВИЧНЫЕ ИММУНОДЕФИЦИТЫ

ТКИН представляет собой значимую социальную и медицинскую проблему в связи с ранней младенческой смертностью. Очевидна привлекательность возможности своевременного лечения, снижения и предотвращения детской смертности с помощью раннего выявления. основополагающей характеристикой любого скрининга является снижение смертности от той или иной патологии. По этой причине ТКИН является подходящим «кандидатом» для скрининга новорожденных согласно критериям Уилсона и Юнгера, которые включают: невозможность выявления заболевания рутинными методами, используемыми неонатологами и педиатрами при рождении ребенка; значительное негативное влияние заболевания на здоровье новорожденного ребенка; возможность излечения либо значительного улучшения качества жизни пациента при ранней постановке диагноза; существование простого, недорогого, эффективного и специфичного лабораторного анализа для скрининга искомого заболевания [7]. Ввиду того, что ТКИН проявляется низким уровнем или отсутствием Т-лимфоцитов, скрининг новорожденных на Т-клеточную лимфопению является идеальной стратегией для выявления заболевания.

В 1970-х гг. были предприняты первоначальные попытки скрининга новорожденных на ТКИН с дефицитом аденозиндезаминазы (АДА) с использованием колориметрического анализа фермента АДА в «сухой капле» крови, но они не увенчались успехом из-за пропущенных случаев и большого количества ложноположительных результатов [8]. Интерлейкин-7 (ИЛ-7), продуцируемый стромальными клетками тимуса для индукции пролиферации и дифференцировки незрелых тимоцитов, также был предложен в качестве биомаркера ТКИН. Однако ввиду низкой стабильности



и быстрой деградации ИЛ-7 в «сухой капле» крови было получено много ложноположительных результатов, поэтому и этот тест не выдержал проверки временем [9].

Следующая предложенная стратегия включала скрининг каждого новорожденного с полным анализом крови для определения количества лимфоцитов, который считался недостаточно чувствительным [10]. Впоследствии также рассматривался скрининг пуповинной крови на популяции Т-клеток с помощью проточной цитометрии. Однако, учитывая, что это, вероятно, потребует много времени и экономически невыгодно, продолжался поиск других методов, которые были бы эффективны для выявления Т-клеточной лимфопении [11].

В 1982 г. методом электронной микроскопии была обнаружена внехромосомная кольцевая ДНК в тимocyтах мыши. Благодаря процессу клонирования было установлено, что данная ДНК в виде кольца – не что иное, как продукт запрограммированной перестройки гена Т-клеточного рецептора. Данные экцизионные кольца получили название TREC (с англ. T-cell receptor excision circle) [12].

Метод по определению TREC был разработан Douek et al. Первоначально TREC использовали для мониторинга образования новых Т-клеток у ВИЧ-инфицированных лиц, получающих эффективное антиретровирусное лечение. По результатам исследований было продемонстрировано, что TREC были специфичны для наивных Т-лимфоцитов и ранних тимических мигрантов, описано снижение TREC с возрастом, что связано с физиологическим процессом – инволюцией тимуса – и при ВИЧ-инфекции. Исследователями было отмечено, что TREC стабильны, не склонны к деградации и не реплицируются при последующем клеточном делении, что делает их идеальным маркером для продукции наивных Т-лимфоцитов [13].

Основополагающая статья была опубликована С. Chan и J. Puck в 2005 г., описывающая возможность и эффективность определения TREC для обнаружения ТКИН в условиях скрининга новорожденных [14].

В 2007 г. был открыт маркер неогенеза В-лимфоцитов – KREC, который образуется в результате рекомбинации генов тяжелой цепи иммуноглобулина каппа при формировании В-клеточного рецептора. Группа ученых во главе с van Zelm et al. исследовали возможность использования KREC (с англ. kappa-deleting recombination excision circle) на основе метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) у пациентов с нарушением лимфопоэза В-лимфоцитов [15]. Они продемонстрировали и доказали, что уровни KREC отсутствуют или могут быть снижены при X-сцепленной агаммаглобулинемии и общей вариабельной иммунной недостаточности (ОВИН) [16, 17].

Впоследствии метод определения TREC и KREC был оптимизирован и лег в основу первого пилотного исследования по выявлению ТКИН, начатого в 2008 г. в штате Висконсин (США). В результате был выявлен новорожденный с ТКИН, которому впоследствии была выполнена трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) [18]. После того, как в 2005 г. было продемонстрировано, что количественная оценка TREC в образцах «сухой капли» является эффективным средством скрининга на выявление ТКИН, этот метод был официально рекомендован в США в 2010 г. В настоящее время скрининг новорожденных применяется во всех штатах США. Пилотные исследования, а также скрининг проводятся во многих странах Европы и Ближнего Востока. В некоторых странах в скрининговых исследованиях применяется только определение TREC, в некоторых – комбинированный анализ, а именно определение и TREC, и KREC (см. таблицу).

Скрининг новорожденных на ПИД с определением как TREC, так и KREC дает преимущества по сравнению с одним только скринингом TREC. Это включает выявление пациентов с дефицитом В-лимфоцитов, к примеру, с X-сцепленной агаммаглобулинемией [19, 20]. Одновременное определение TREC/KREC также облегчает диагностику синдрома Неймегена (NBS), атаксии-телеангиоэктазии и других форм ПИД, которые в противном случае могут быть пропущены [21, 22]. Комбинированный скрининг помогает в диагностическом процессе и позволяет проводить целенаправленную молекулярную диагностику, поскольку различные мутации при ПИД приводят к вариабельной картине дефицита Т- и В-лимфоцитов.

Помимо Т- и В-клеточной лимфопении TREC и/или KREC могут быть снижены при таких состояниях, как трисомия 21-й хромосомы, синдром CHARGE, недоношенность, аутоиммунные заболевания матери при беременности, прием иммуносупрессивных препаратов также может сопровождаться Т-лимфопенией с низким уровнем TREC. Врожденный лейкоз также является причиной низкого уровня Т-клеток. Ограничением метода определения TREC и/или KREC является невозможность выявить

Методы и результаты проведения скрининга новорожденных на ПИД Methods and results of newborn screening for PID

Страна	Метод скрининга	Дата начала	Установленная частота встречаемости ТКИИ	Источники
США (50 штатов) Народность Навахо	TREC	2018. ГПС	1:58 000 1:2000 (ген Artemis)	Dorsey & Puck, 2017 [23] http://www.info4pi.org/
Флоренция (Италия)	TREC/ADA	2013. ПИ	1:18 981	Study http://ipopi.org/
Тайвань	TREC	2010. ПИ 2012. ГПС	1:131 000	Chien Y.H. et al., 2017 [24]
Израиль	TREC	2011. ПИ 2015. ГПС	1:22,374	Rechavi et al., 2017 [25]
Нидерланды	TREC	2012. ПИ 2021. ГПС	1:141 343	Blom et al., 2017 [26]
Саудовская Аравия	TREC	2018. ГПС	1:2906	Mousa et al., 2018 [27]
Германия	TREC/KREC	2013. ПИ 2017. ГПС	1:22 143	http://ipopi.org/
Швеция	TREC/KREC	2013. ПИ 2020. ГПС	1:38 500	Göngrich et al., 2021 [28]
Япония	TREC/KREC	2014. ПИ 2017. ГПС	1:68 742	Wakamatsu et al., 2021 [29]
Франция	TREC	2017. ПИ	1:95 259	Audrain et al., 2021 [30]
Испания (Каталония)	TREC/KREC	2017. ГПС	1:74 187	Argudo-Ramírez et al., 2021 [31]
Великобритания	TREC	2021. ПИ	1 43 600	http://ipopi.org/
Австрия	TREC/KREC	2017. ПИ	Неизвестно	http://ipopi.org/
Швейцария	TREC/KREC	2019. ГПС	Неизвестно	http://ipopi.org/
Российская Федерация	TREC/KREC	2021. ПИ 2023. ГПС	1:14 000	https://amgevents.signifco.ru/videodec22#rec438057929

Примечания: ГПС – государственная программа скрининга; ПИ – пилотное исследование.



такие ТКИН, как дефицит АДА с генетической поломкой в гене ADA, дефицит Zap70; дефицит МНС II класса [32].

Известные в мире тест-системы направлены как на определение только TREC, так и на определение и TREC и KREC [33–36]. Но все же одновременное определение обоих маркеров является эффективным с точки зрения единовременного определения дефицита как Т, так и В-клеточного звена в одном исследовании.

В Республике Беларусь на базе государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» (РНПЦ ДОГИ) с 2016 г. был разработан собственный метод количественного определения TREC и KREC в результате выполнения тем НИР: № госрегистрации 20180839. Задача 6.11 «Разработать метод определения кольцевых продуктов реаранжировки генов Т- и В-клеточного рецептора методом мультиплексной количественной ПЦР в реальном времени для диагностики иммунопатологических состояний» (2016–2020) [37]. Метод представляет собой одновременное определение уровней TREC и KREC в цельной периферической крови, в «сухой капле» крови с высокой диагностической эффективностью, чувствительностью и специфичностью и с 2020 г. используется в клинико-диагностическом процессе по выявлению ПИД. Исследование может быть проведено без зарубежных, а только с отечественными реагентами [38, 39].

Скрининг новорожденных на ПИД во всем мире продолжает оставаться развивающейся областью, направленной на раннюю диагностику тяжелых нарушений иммунной системы, для которых очень важно своевременное лечение.

■ ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ СКРИНИНГА НА ПИД

Помимо очевидных клинических преимуществ неонатальный скрининг должен быть экономически выгодным и эффективным. Экономическая эффективность и целесообразность неонатального скрининга ТКИН рассчитаны в ряде исследований на основании частоты встречаемости, чувствительности, специфичности скринингового теста, а также его стоимости, которая составляет около 10 долл. США [40, 41]. Для определения экономической эффективности скрининга были также рассчитаны показатели общей выживаемости при проведении ТГСК в период до 3,5 месяца постконцептуального возраста и дополнительные затраты на лечение одного пациента с лимфопенией умершего до постановки правильного диагноза и назначения правильного лечения [42–45]. Расчеты проведенных исследований штата Вашингтон, в котором было выполнено первое скрининговое исследование по выявлению ПИД, демонстрируют, что при рождаемости 86 600 детей/год и стоимости одного исследования по определению TREC/KREC, равной 8,16 долл. США, на скрининг тратится 741 тысяча долларов, что в свою очередь уменьшает общие затраты здравоохранения на лечение одного ребенка с 457 до 197 тысяч долларов ежегодно, что экономически выгодно. Таким образом, неонатальный скрининг на выявление ПИД не только повышает выявляемость заболевания и выживаемость новорожденных, понижает инвалидизацию, но и экономит до 43%, то есть до 316 905 долларов, бюджета штата Вашингтон от потраченного на лечение детей с ПИД [43].

■ СКРИНИНГ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

Скрининг на ПИД соответствует принципам, которые необходимы для неонатального скрининга. На сегодняшний день доказана клиническая и экономическая

эффективность скрининга на ПИД в ряде стран, где он проводится посредством определения в «сухой капле» крови новорожденного маркеров Т- и В-клеточного неогенеза TREC/KREC.

В Беларуси, в г. Минске, с апреля 2023 г. начато первое в республике пилотное исследование по скринингу новорожденных на ПИД. В исследовании участвуют 5 городских роддомов с перинатальными центрами. Полученные данные будут проанализированы (РНПЦ ДОГИ), при необходимости новорожденные будут консультированы врачом-иммунологом, в дальнейшем будут проведены необходимые иммунологические исследования, поиск генетической причины ПИД, что необходимо не только для установления генетического диагноза ПИД, но и для медико-генетического консультирования членов семьи.

Выявление посредством проведения пилотного проекта одного новорожденного с ПИД и проведение ТГСК в первое полугодие его жизни позволит сэкономить до 300 000 белорусских рублей в сравнении с затратами на лечение и пребывание ребенка в стационаре. Одним из источников гемопоэтических стволовых клеток для проведения ТГСК является пуповинная кровь. Стволовые клетки пуповинной крови – уникальный донорский материал. На базе РНПЦ ДОГИ с 2010 г. работает Банк персонального хранения пуповинной крови, в котором в настоящее время находится более 1730 образцов. Уникальность пуповинной крови состоит в том, что в качестве материала для трансплантации стволовых клеток она на 100% подойдет ребенку, с вероятностью около 75% – его сиблингам, а в ряде случаев (при совпадении параметров стволовых клеток) и другому человеку, нуждающемуся в трансплантации.

Выполнение пилотного проекта по неонатальному скринингу новорожденных в г. Минске позволит установить не только истинную распространенность ПИД (которая может оказаться выше ожидаемой), но также обосновать клиническую и экономическую целесообразность внедрения полномасштабного неонатального скрининга на ПИД в Республике Беларусь.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По данным регистра ПИД, в Республике Беларусь зарегистрировано 22 пациента с ТКИН, из них пяти пациентам проведена ТГСК. К настоящему времени 4/5 пациентов после ТГСК живы. Таким образом, частота встречаемости данной патологии составляет приблизительно 1 на 300 000, в сравнении с мировыми данными это свидетельствует о недооцениваемости ТКИН в связи с ранней младенческой смертностью [46]. Для полномасштабного внедрения скрининга необходимо проведение пилотного исследования с установлением частоты встречаемости не более чем 1 на 50 000 новорожденных.

Ведущими причинами младенческой смертности в Республике Беларусь являются врожденные пороки развития, перинатальная асфиксия, инфекции и врожденные нарушения метаболизма. Синдромы хромосомных аномалий, врожденные пороки сердца, легочная гипоплазия и тяжелые дефекты нервной трубки составляют большинство летальных аномалий развития. В настоящее время известно, что многие нозологические синдромы первичных иммунодефицитов включают в свой симптомокомплекс различные врожденные пороки развития – это не сопутствующая патология, а, как правило, следствие одних и тех же генетических дефектов.



Скрининг новорожденных на ПИД во всем мире продолжает оставаться развивающейся областью, направленной на раннюю диагностику тяжелых нарушений иммунной системы, для которых очень важно своевременное лечение. На основании результатов выполненного исследования представляется возможным раннее выявление врожденной иммунопатологии у детей, что предотвращает вероятность развития серьезных последствий ее дальнейшего прогрессирующего развития.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Notarangelo L.D., Uzel G., Rao V.K. Primary immunodeficiencies: novel genes and unusual presentations. *Hematology. Am. Soc. of Hematol. Educ. Program.* 2019;2019:443–448. <https://doi.org/10.1182/hematology.2019000051>.
2. Buckley R.H. The long quest for neonatal screening for severe combined immunodeficiency. *The J. of Allergy and Clin. Immunol.* 2012;129:597–604. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2011.12.964>.
3. Tangye S.G., Al-Herz W., Bousfiha A., et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2022 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol.* 2022; 2:1473–1507. <https://doi.org/10.1007/s10875-022-01289-3>.
4. Buchbinder D., Walter J.E., Butte M.J., et al. When screening for Severe Combined Immunodeficiency (SCID) with T cell receptor excision circles is not SCID: a case-based review. *J. of Clin. Immunol.* 2021;41:294–302. <https://doi.org/10.1007/s10875-020-00931-2>.
5. Laberko A.L., Rodina Yu.A., Deripapa E.V., et al. Influence of clinical and immunophenotypic variants of severe combined immunodeficiency on severity and outcomes of opportunistic infections. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology.* 2020;19(4):30–38. (In Russ.). <https://doi.org/10.24287/1726-1708-2020-19-4suppl-30-38>.
6. Verbsky J.W., Baker M.W., Grossman W.J., et al. Newborn screening for severe combined immunodeficiency; the Wisconsin experience (2008–2011). *J Clin Immunol.* 2012;32:82–8. <https://doi.org/10.1007/s10875-011-9609-4>.
7. Wilson D., Jungner G. Principles and practice of morbidity surveys. World Organization healthcare. Medicine. 1970.
8. Jilkina O., Thompson J.R., Kwan L., et al. Retrospective TREC testing of newborns with Severe Combined Immunodeficiency and other primary immunodeficiency diseases. *Mol Genet Metab Rep.* 2014;1:324–333. <https://doi.org/10.1016/j.jymgm.2014.07.003>.
9. Bolotin E., Annett G., Parkman R., Weinberg K. Serum levels of IL-7 in bone marrow transplant recipients: relationship to clinical characteristics and lymphocyte count. *Bone Marrow Transplant.* 1999;23(8):783–8. <https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1701655>.
10. Buckley R.H., Schiff R.I., Schiff S.E., et al. Human severe combined immunodeficiency: genetic, phenotypic, and functional diversity in one hundred eight infants. *J Pediatr.* 1997;130:378–87. [https://doi.org/10.1016/s0022-3476\(97\)70199-9](https://doi.org/10.1016/s0022-3476(97)70199-9).
11. Collier F., Tang M., Ponsonby A.L., Vuillemin P. Flow cytometric assessment of cord blood as an alternative strategy for population-based screening of severe combined immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol.* 2013 Apr;131(4):1251–2. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2012.09.039>.
12. Fujimoto S., Yamagishi H. Isolation of an excision product of T-cell receptor alpha-chain gene rearrangements. *Nature.* 1987;327(6119):242–3. <https://doi.org/10.1038/327242a0>.
13. Douek D.C., McFarland R.D., Keiser P.H., et al. Changes in thymic function with age and during the treatment of HIV infection. *Nature.* 1998;396(6712):690–5. <https://doi.org/10.1038/25374>.
14. Chan K., Puck J.M. Development of population-based newborn screening for severe combined immunodeficiency. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2005;115(2):391–398. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2004.10.012>.
15. Van Zelm M.C., Szczepanski T., van der Burg M., van Dongen J.J. Replication history of B lymphocytes reveals homeostatic proliferation and extensive antigen-induced B cell expansion. *J Exp Med.* 2007;204(3):645–55. <https://doi.org/10.1084/jem.20060964>.
16. Van Zelm M.C., van der Burg M., Langerak A.W., van Dongen J.J.M. PID comes full circle: Applications of V(D)J recombination excision circles in research, diagnostics and newborn screening of primary immunodeficiency disorders. *Frontiers in Immunology.* 2011;2:1–9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2011.00012>.
17. Van Zelm M.C., Szczepanski T., Van Der Burg M., Van Dongen J.J.M. Replication history of B lymphocytes reveals homeostatic proliferation and extensive antigen-induced B cell expansion. *Journal of Experimental Medicine.* 2007;204(3):645–655. <https://doi.org/10.1084/jem.20060964>.
18. Routes J.M., Grossman W.J., Verbsky J., et al. Statewide newborn screening for severe T-cell lymphopenia. *JAMA.* 2009;302(22):2465–70. <https://doi.org/10.1001/jama.2009.1806>.
19. Borte S., Von Döbeln U., Fasth A., et al. Neonatal screening for severe primary immunodeficiency diseases using high-throughput triplex real-time PCR. *Blood.* 2012;119(11):2552–2555. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-08-371021>.
20. Sottini A., Ghidini C., Zanotti C., et al. Simultaneous quantification of recent thymic T-cell and bone marrow B-cell emigrants in patients with primary immunodeficiency undergone to stem cell transplantation. *Clinical Immunology.* 2012;136:217–227.
21. Dasouki M., Jabr A., Aldakheel G., et al. TREC and KREC profiling as a representative of thymus and bone marrow output in patients with various inborn errors of immunity. *Clin Exp Immunol.* 2020;202(1):60–71. <https://doi.org/10.1111/cei.13484>.
22. Nourizadeh M., Shakerian L., Borte S., et al. Newborn screening using TREC/KREC assay for severe T and B cell lymphopenia in Iran. *Scand J Immunol.* 2018 Jun 26; e12699. doi: <https://doi.org/10.1111/sji.12699>.
23. Dorsey M., Puck J. Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency in the US: Current Status and Approach to Management. *International Journal of Neonatal Screening.* 2017;3(2):15. <https://doi.org/10.3390/ijns3020015>.
24. Chien Y.H., Yu H.H., Lee N.C., et al. Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency in Taiwan. *International Journal of Neonatal Screening.* 2017;3(3):16. <https://doi.org/10.3390/ijns3030016>.
25. Rechavi E., Lev A., Simon A.J., et al. First Year of Israeli Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency-Clinical Achievements and Insights. *Front Immunol.* 2017;8:1448. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01448>.
26. Blom M., Bredius R.G.M., Weijman G., et al. Introducing Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency (SCID) in the Dutch Neonatal Screening Program. *Int J Neonatal Screen.* 2018;4(4):40. <https://doi.org/10.3390/ijns4040040>.

27. Al-Mousa H., Al-Dakheel G., Jabr A., et al. High Incidence of Severe Combined Immunodeficiency Disease in Saudi Arabia Detected Through Combined T Cell Receptor Excision Circle and Next Generation Sequencing of Newborn Dried Blood Spots. *Front Immunol.* 2018;9:782. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00782>.
28. Göngrich C., Ekwall O., Sundin M., et al. First Year of TREC-Based National SCID Screening in Sweden. *Int J Neonatal Screen.* 2021;7(3):59. <https://doi.org/10.3390/ijns7030059>.
29. Wakamatsu M., Kojima D., Muramatsu H., et al. TREC/KREC Newborn Screening followed by Next-Generation Sequencing for Severe Combined Immunodeficiency in Japan. *J Clin Immunol.* 2022;42(8):1696–1707. <https://doi.org/10.1007/s10875-022-01335-0>.
30. Audrain M., Thomas C. Neonatal Screening for SCID: The French Experience. *International Journal of Neonatal Screening.* 2021;7(3):42. <https://doi.org/10.3390/ijns7030042>.
31. Argudo-Ramírez A., Martín-Nalda A., González de Aledo-Castillo J.M., et al. Newborn Screening for SCID. Experience in Spain (Catalonia). *Int J Neonatal Screen.* 2021;7(3):46. <https://doi.org/10.3390/ijns7030046>.
32. Speckmann C., Neumann C., Borte S., et al. Delayed-onset adenosine deaminase deficiency: strategies for an early diagnosis. *J Allergy Clin Immunol.* 2012 Oct;130(4):991–4. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2012.04.004>.
33. Puck J.M. Laboratory Technology for Population-based Screening for SCID in Neonates: The Winner Is T-cell Receptor Excision Circles (TRECs). *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2013;3:607–616.
34. Neonatal E., Kit T. iMedPub Journals MyTREC RealTime qPCR Assay Reagent Kit for Quantification of Human T-Cell Receptor Excision Circles (TRECs) Applications of TREC Assay Kit Contents GenenPlus MyTREC Kit versus Perkin. 2015; 2–5: <https://doi.org/10.21767/2472-1158.100004>.
35. Gutierrez-Mateo C., Timonen A., Vaahtera K., et al. Development of a Multiplex Real-Time PCR Assay for the Newborn Screening of SCID, SMA, and XLA. *Int J Neonatal Screen.* 2019;5(4):39. <https://doi.org/10.3390/ijns5040039>.
36. Tessitore M.V., Sottini A., Roccaro A.M., et al. Detection of newly produced T and B lymphocytes by digital PCR in blood stored dry on nylon flocced swabs. *J Transl Med.* 2017 Apr 5;15(1):70. doi: 10.1186/s12967-017-1169-9.
37. Stegantseva M.V., Guryanova I.E., Sakovich I.S., et al. Method for quantitative determination of ring molecules of T- and B-cell receptor DNA, TREC and KREC, in peripheral blood using real-time PCR. *Eurasian Journal of Oncology.* 2017;3:449–456. (In Russian)
38. Polyakova E.A., Stegantseva M.V., Lutskovich D.V., Belevtsev M.V. Evaluation of T- and B-cell Immunity Based on the T- and B-cell Receptor DNA Excision Circles (TREC/KREC) Detection Technology. *Lab. Diagnostics. Eastern Europe.* 2022;11:279–288.
39. Polyakova E., Guryanova I., Stegantseva M., et al. Quantitative determination of circular DNA fragments of the T- and B-cell receptor TREC/KREC in patients with ataxia-telangiectasia with a mutation in the ATM gene. *Immunopathology, Allergology, Infectology,* 2022;6–11. <https://doi.org/10.14427/jipai.2022.2.6>
40. Bousfiha A., Jeddane L., Al-Herz W., et al. The 2015 IUIS Phenotypic Classification for Primary Immunodeficiencies. *J Clin Immunol.* 2015;35(8):727–38. <https://doi.org/10.1007/s10875-015-0198-5/>.
41. Casanova J.L., Abel L. Primary immunodeficiencies: a field in its infancy. *Science.* 2007;317(5838):617–9. <https://doi.org/10.1126/science.1142963>.
42. Chan A., Scalchunes C., Boyle M., Puck J.M. Early vs. delayed diagnosis of severe combined immunodeficiency: a family perspective survey. *Clin Immunol.* 2011;138(1):3–8. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2010.09.010>
43. Ding Y., Thompson J.D., Kobrynski L., et al. Cost-Effectiveness/Cost-Benefit Analysis of Newborn Screening for Severe Combined Immune Deficiency in Washington State. *J Pediatr.* 2016;172:127–135. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2016.01.029>
44. Hale J.E., Bonilla F.A., Pai S.Y., et al. Identification of an infant with severe combined immunodeficiency by newborn screening. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;126(5):1073–4. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.08.043>.
45. An der Spek J., Groenwold R.H., van der Burg M., van Montfrans J.M. TREC Based Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency Disease: A Systematic Review. *J Clin Immunol.* 2015;35(4):416–30. <https://doi.org/10.1007/s10875-015-0152-6>.
46. Belevtsev M.V., Sharapova S.O., Guryanova I.E., et al. Immunodeficiency registry: A report from BELARUS (2007–2021). Abstract book. 20th biennial meeting of the European Society for Immunodeficiencies. 2022; WP015.