

až prvních měsíců od narození. Objevují se klasické i oportunní bakteriální, virové a plísňové infekce postihující různé orgány, které nereagují adekvátně na antibiotickou, antivirovou nebo antimykotickou léčbu. Jedná se zejména o opakované, závažné a perzistující infekce horních a dolních dýchacích cest způsobené klasickými nebo oportunními patogeny (například *Pneumocystis jirovecii*) a dále kandidové infekce orofaryngeální oblasti (6). Kromě recidivujících závažných infekčních komplikací se objevují také průjmy a neprospívání (7). Před provedením první úspěšné transplantace kostní dřeně u pacienta s touto diagnózou v roce 1968 bylo toto onemocnění letální (8). Dnes je možné pacienty vyléčit pomocí včasné provedené HSCT, ale v některých případech také náhradou tvorby chybějícího enzymu SCID v důsledku deficitu enzymu adenosindeaminázy (ADA-SCID) nebo dokonce genovou terapií (6).

Většina genových mutací způsobujících toto onemocnění vzniká sporadicky bez předchozího výskytu v rodinách, což bylo v minulosti jedno z mála vodítek umožňující časnější diagnózu SCID (9). Navíc bylo prokázáno, že pokud byli pacienti s touto diagnózou zejména díky pozitivní rodinné anamnéze diagnostikováni a podstoupili HSCT během svých prvních 3,5 měsíců života, měli lepší naději na přežití než děti, které byly diagnostikovány a залéčeny později, a tím pádem již trpěly na závažnější a vnitřní orgány poškozující infekce (10). Vzhledem k výše uvedenému se tato skupina onemocnění ukázala být ideálním kandidátem pro zavedení screeningové vyšetření novorozenců (11). Jedná se totiž o onemocnění, které je bez provedení rekonstituce imunitního systému fatální, po narození má krátkou asymptomatickou periodu, k dispozici je účinná terapie, časnější terapeutický zásah znamená lepší prognózu pacienta a navíc existuje laboratorní vyšetření, které umožňuje detekci závažného postižení lymfocytů ihned po narození (12).

S prvním pokusem o časný záchyt novorozenců s diagnózou SCID přišla v roce 1997 skupina kolem Buckleyové a Puckové, která ukázala na to, že u většiny pacientů s diagnózou SCID se vyskytuje snížení absolutního počtu lymfocytů v diferenciálním krevním obraze (13). Nicméně SCID pacienti se sníženým počtem T lymfocytů, ale zároveň zvýšeným počtem B lymfocytů nebo NK buněk nemuseli mít celkovou lymfopenii, čímž by při použití této screeningové metody unikli ze zřetele. Podobně falešně negativní výsledky byly získány v případě přítomnosti maternofetálního engraftmentu T lymfocytů, při kterém se v cirkulaci kojence nacházejí mateřské T lymfocyty. Zavedení screeningového vyšetření bylo umožněno až zjištěním, že během vývoje T lymfocytů dochází k přeskupování genů kódujících T-buněčný receptor, což vede ke vzniku široké škály T lymfocytů, které dokáží rozpoznat velké množství různých antigenů. Při tomto procesu dochází k odštěpení již dále nepotřebných fragmentů DNA, které se na koncích spojí do kroužku. Takto vznikají tzv. TRECs z anglického „T cell receptor excision circles“. Tyto nadbytečné kroužky DNA nejsou schopny další replikace, proto se jejich množství v buňkách postupně snižuje s každým dalším kolem buněčného dělení. Kvantifikace počtu TRECs pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) odpovídá počtu nově vytvořených naivních T lymfocytů, které se dostávají z thymu do periferní cirkulace. Děti mají po narození vyšší počet TRECs (přibližně 1 TREC na 10 T lymfocytů) v porovnání se staršími dětmi nebo dospělými osobami (10–100krát nižší počet TRECs), kdy ke zvýšení počtu T lym-

focytů dochází proliferací již dříve vytvořených T lymfocytů v periferní místo zvýšené produkce naivních T lymfocytů thymem (14). Později byly popsány také KRECs (z anglického „kappa-deleting recombination excision circles“), což jsou malé kruhové DNA molekuly, které vznikají během vývoje B lymfocytů při rekombinaci genů pro těžký a lehký řetězec imunoglobulinů (15). Podobně jako TRECs se neúčastní další replikace a jejich počet zůstává stabilní v buňkách, které se již nedělí. TRECs jsou tvořeny během pozdních fází vývoje T lymfocytů prakticky před jejich uvolněním z thymu do periferní cirkulace, takže jejich hladina v periferní krvi odráží aktivitu thymu (16, 17). Na druhou stranu KRECs jsou vytvářeny v časných fázích vývoje B lymfocytů až po vyzrálé B lymfocyty. Počet KRECs v periferní krvi odráží počet naivních vyzrálých B lymfocytů (15). Je třeba si však uvědomit, že vyšetření pomocí TRECs a KRECs nezachytí poruchy funkce lymfocytů, které vzniknou až po přeskupení DNA v procesu VDJ rekombinace.

Novorozenecký laboratorní screening je součástí preventivní péče a jeho cílem je rychlá diagnostika a včasná léčba novorozenců se vzácnými onemocněními. První novorozenecký screeningový program byl vyvinut v 60. letech minulého století ve Spojených státech amerických profesorem Robertem Guthriem, kterému se podařilo vyvinout metodu, která umožňovala stanovení fenylalaninu v suché kapce kapilární krve odebrané na filtrační papírek (18). Screening fenylketonurie se stal prvním a je doposud nejvíce rozšířeným novorozeneckým screeningem na světě. V České republice projde každoročně screeningovým vyšetřením přibližně 110–115 tisíc novorozenců, což jsou téměř všichni novorozenci daného roku až na malé množství nově narozených dětí, které přišly na svět mimo zdravotnická zařízení či jejich zákonní zástupci odmítli provedení screeningového vyšetření. Odběr krve z paty novorozence je prováděn 48–72 hodin po porodu.

Pod záštitou Národní screeningového centra České republiky se do počátku roku 2024 provádělo screeningové vyšetření novorozenců na přítomnost celkem 18 onemocnění (kongenitální hypotyreózy, kongenitální adrenální hyperplazie, cystické fibrózy a celkem 15 typů dědičných poruch metabolismu). Mezi ně se od 1. ledna 2024 zařadil nově také screening těžké kombinované imunodeficience (SCID) a spinální muskulární atrofie (SMA). Pro screeningovou analýzu těchto onemocnění není nutný další odběr vzorku, protože vyšetření se provádí ze stejné suché kapky krve odebírané pro rutinní novorozenecký screening.

Zavedení plošného screeningu SCID předcházelo 2 roky trvající pilotní projekt. Primárním cílem pilotního projektu bylo zachytit pacienty s diagnózou SCID. Nicméně vyšetřením počtu TRECs a KRECs je možné zachytit kromě SCID také část pacientů s některými dalšími závažnými imunodeficiencemi, pro které je charakteristická lymfopenie. Mezi ně patří například Xvázaná agamaglobulinemie (XLA), autozomálně recesivně dědičná agamaglobulinemie (ARAG), diGeorgův syndrom (DGS), ataxia teleangiectasia (AT), Downův syndrom (DS), Nijmegen breakage syndrom (NBS) a další.

Laboratorní vyšetření SCID metodou kvantitativní polymerázové řetězové reakce v reálném čase (QR-PCR) provádějí dvě pracoviště, a to Diagnostické laboratoře dědičných poruch metabolismu Všeobecné fakultní nemocnice v Praze a Centrum molekulární biologie a genetiky Interní hematologické a onkologické kliniky Fakultní nemocnice Brno.