

**LÉKAŘSKÁ FAKULTA UNIVERSITY PALACKÉHO V OLMOUCI**



# **ERYTROCYTÁRNÍ ALOIMUNIZACE U TĚHOTNÝCH ŽEN**

**Disertační práce**

**MUDr. Iva Holusková**

Školitel: Doc. MUDr. Marek Ľubušký, Ph.D.

Školitel specialista: Doc. MUDr. Martin Procházka, Ph.D.

Olomouc 2016

## OBSAH

1	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK .....	4
2	PODĚKOVÁNÍ.....	5
3	ÚVOD.....	6
4	SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY .....	7
4.1	Erytrocytární aloimunizace v těhotenství.....	7
4.2	Klinický význam antierytrocytárních protilátek.....	9
4.3	Krevně skupinové systémy .....	11
4.3.1	AB0 SYSTÉM (ISBT 001) a H systém (ISBT 018) .....	11
4.3.2	Rh SYSTÉM (ISBT 004).....	17
4.3.3	KELL SYSTÉM ( ISBT 006) .....	26
4.3.4	MNS SYSTÉM (objeven v roce 1927) – ISBT 002 .....	32
4.3.5	DUFFY SYSTÉM (ISBT 008) .....	35
4.3.6	KIDD SYSTÉM (ISBT 009).....	37
4.3.7	SYSTÉM DIEGO (ISBT 010) .....	39
4.3.8	SYSTÉM LUTHERAN (ISBT 005) .....	41
4.3.9	P SYSTÉM (ISBT 003).....	41
4.4	Laboratorní diagnostika.....	42
4.4.1	Vyšetření krevní skupiny AB0 + RhD .....	42
4.4.2	SCREENING nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek .....	43
4.4.3	IDENTIFIKACE nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek .....	44
4.4.4	KVANTIFIKACE (titrace) specifických klinicky významných aloprotilátek .....	44
5	CÍL PRÁCE.....	45
6	SOUBOR A METODIKA.....	46
7	VÝSLEDKY.....	48
8	DISKUSE .....	54
9	ZÁVĚR .....	57
10	DOPORUČENÍ K PROVÁDĚNÍ SCREENINGU NEPRAVIDELNÝCH ANTIERYTROCYTÁRNÍCH PROTILÁTEK V TĚHOTENSTVÍ .....	58
11	LITERATURA.....	59

12	PUBLIKACE A PŘEDNÁŠKY .....	74
12.1	Publikace a přednášky související s disertační prací .....	74
12.2	Ostatní .....	87
12.3	Granty .....	89
13	SOUHRN.....	90
14	SUMMARY .....	91
15	PŘÍLOHY.....	92

## 1 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

C3d	složka komplementu
ČGPS	Česká gynekologická a porodnická společnost
ČLS JEP	Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně
ČR	Česká republika
<i>DARC</i>	gen pro Duffy systém
D <sup>w</sup> (D <sup>weak</sup> )	slabé D
D <sup>v</sup> (D <sup>variant</sup> )	variantní D
Fuc	L-fukóza
Gal	D-galaktóza
GalNac	N-acetyl-D-galaktózamin
GlcNac	N-acetyl-D-glukózamin
GPA	glykophorin A
GPB	glykophorin B
HDFN	Hemolytická nemoc plodu a novorozence (Haemolytic Disease of the Fetus and Newborn)
IgG	Imunoglobulin G
IgM	Imunoglobulin M
ISTO	informační systém Transfuzního oddělení
K <sub>3</sub> EDTA	tridraselná sůl kyseliny ethylendiamintetraoctové
LISS	roztok o nízké iontové síle
NAT	nepřímý antiglobulinový test
Rh	Rhesus
RhAG	Rh-associated glykoprotein
<i>SLC14A1</i>	gen kódující Kidd antigeny
<i>SLC4A1</i>	gen kódující Diego antigeny
UDP	uridindifosfát

## 2 PODĚKOVÁNÍ

Děkuji svému školiteli Doc. MUDr. Markovi Ľubuškému, Ph.D. za odborné vedení a cenné rady a Prof. MUDr. Radovanovi Pilkovi, Ph.D. za umožnění vědecké práce na Porodnicko-gynekologické klinice FN Olomouc.

Prohlašuji, že jsem disertační práci napsala samostatně s využitím pouze uvedených a řádně citovaných pramenů a literatury a že práce nebyla využita v rámci jiného vysokoškolského studia či k získání jiného nebo stejného titulu.

V Olomouci 4. 2. 2016

.....

### 3 ÚVOD

Dle doporučeného postupu České gynekologické a porodnické společnosti (ČGPS) České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně (ČLS JEP) by v České republice (ČR) měl být proveden všem těhotným ženám v prvním trimestru těhotenství screening nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek [173].

Cílem screeningu nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek je vyselektovat rizikovou skupinu těhotných žen, u kterých existuje riziko rozvoje Hemolytické nemoci plodu a novorozence (HDFN, Haemolytic Disease of the Fetus and Newborn).

V ČR však neexistuje národní registr screeningových programů v těhotenství, a tudíž nejsou k dispozici ani validní informace o incidenci antierytrocytárních protilátek u těhotných žen.

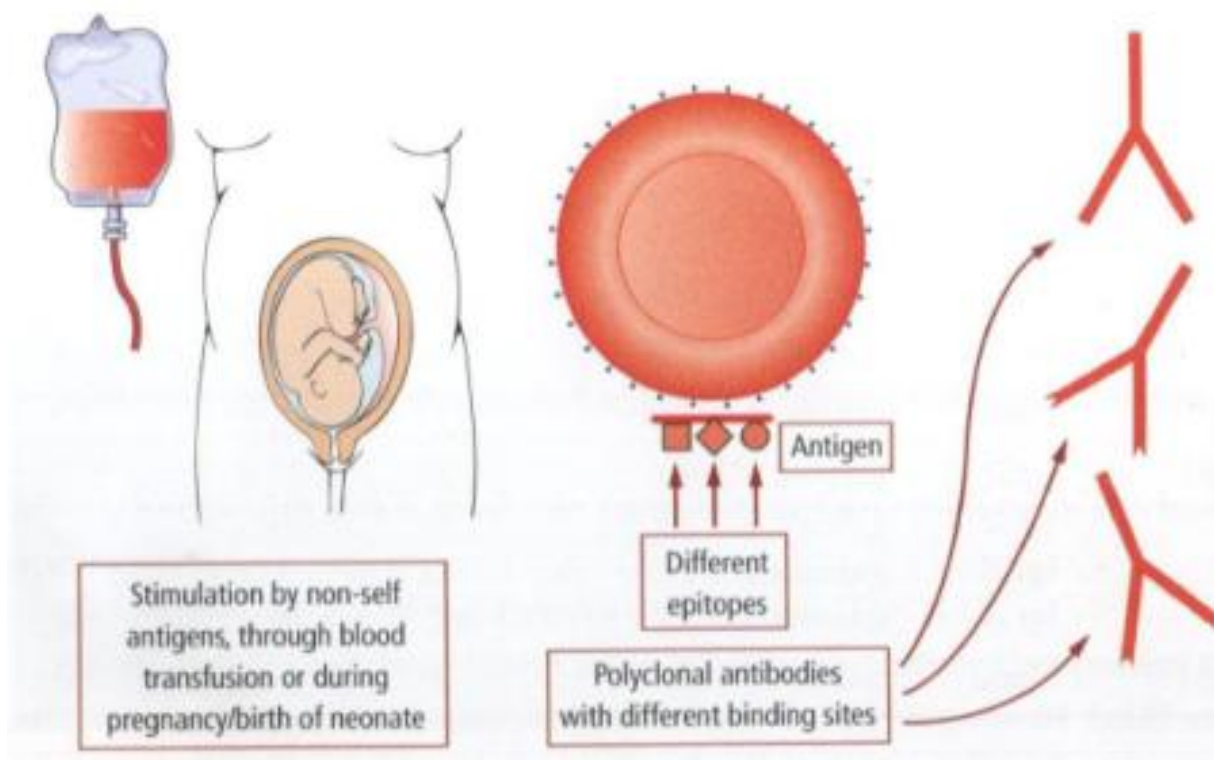
Cílem práce bylo zjistit incidenci specifických klinicky významných antierytrocytárních aloprotilátek u těhotných žen v prvním trimestru těhotenství v olomouckém regionu.

## 4 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

### 4.1 Erytrocytární aloimunizace v těhotenství

**Erytrocytární aloimunizace** se rozvíjí jako následek stimulace imunitního systému cizími povrchovými erytrocytárními antigeny, které následně navozují tvorbu imunních protilátek třídy IgG [23]. Erytrocytární aloimunizace může být navozena podáním krevní transfuze, která obsahuje pro příjemce transfuze jemu cizí erytrocytární antigen nebo v průběhu těhotenství následkem fetomaternální hemoragie, kdy plod zdědil po otci antigen, který není přítomen na erytrocytech matky [23, 164] (Obr. 1). Mateřské aloprotilátky mohou v průběhu těhotenství pronikat placentou do krevního oběhu plodu (transplacentární přenos), kde se naváží na fetální erytrocyty, které jsou následně destruovány v retikulo-endoteliálním systému plodu. Dochází k rozvoji hemolytické nemoci plodu a novorozence (HDFN – Haemolytic Disease of the Fetus and Newborn). Není-li aloimunizace matky diagnostikována a HDFN léčena, může vést k závažné perinatální morbiditě a mortalitě. Jedná-li se o první kontakt imunitního systému matky s inkompatibilním erytrocytárním antigenem plodu, dochází ke vzniku závažné formy HDFN ve stávajícím těhotenství jen vzácně. Závažnou formou HDFN jsou většinou ohroženy antigenně inkompatibilní plody až v následujících těhotenstvích [141].

**Nepravidelné antierytrocytární protilátky** lze rozdělit podle optimální teploty, při které jsou schopny vázat antigen, na **tepelné**, které reagují při tělesné teplotě 37°C, a **chladové**, které reagují nejlépe při pokojové (20°C až 23°C), ev. nižší teplotě. Nepravidelné tepelné antierytrocytární protilátky lze dále dělit na **autoprottilátky** a **aloprottilátky** dle přítomnosti nebo nepřítomnosti komplementárního antigenu na povrchu erytrocytů daného jedince. Jsou-li namířeny proti konkrétnímu erytrocytárnímu antigenu, hovoříme o protilátkách **specifických**, vykazují-li širokou reaktivitu s různými nebo podobnými antigeny, hovoříme o protilátkách **nespecifických** [141]. Za **klinicky významné** antierytrocytární aloprotilátky považujeme u těhotných žen takové aloprotilátky, které v případě přítomnosti komplementárního antigenu na povrchu erytrocytů u plodu mohou způsobit rozvoj závažné formy HDFN. Podrobněji viz. tabulka č.6 (Tab. 6).



**Obr. 1.** Schematický diagram znázorňující produkci polyklonálních protilátek, převzato od Daniels G., Bromilow I. Essential Guide to Blood Groups. 1st edition, Blackwell Publishing, 2007 [34]



## 4.2 Klinický význam antierytrocytárních protilátek

Hemolytickou nemoc plodu a novorozence mohou teoreticky způsobovat jakékoliv antierytrocytární aloprotilátky třídy IgG. S ohledem na riziko rozvoje HDFN ve vztahu k jednotlivým krevně skupinovým systémům lze antierytrocytární protilátky u těhotných žen rozdělit na klinicky „nejvýznamnější“, „významné“ a „nevýznamné“.

Rozdělení antierytrocytárních protilátek u těhotných žen z hlediska klinického významu pro riziko rozvoje HDFN zobrazuje tabulka č. 1 (Tab. 1).

<p>Klinicky <b>nejvýznamnější</b> antierytrocytární protilátky          protilátky proti antigenům D, c, K, E</p> <p>Klinicky <b>významné</b> antierytrocytární protilátky          aloprotilátky proti antigenům C, e, Ce, cE, Fy<sup>a</sup>, Jk<sup>a</sup>, A, B, C<sup>w</sup>, ce, G, k, S, s          velmi zřídka proti antigenům C<sup>x</sup>, E<sup>w</sup>, M, U, Fy<sup>b</sup>, Kp<sup>a,b</sup>, Js<sup>a,b</sup>, PP<sub>1</sub>P<sup>k</sup>, Jk<sup>b</sup>, Tj<sup>a</sup>, Yt<sup>a</sup>, LW, Di, Ge, En<sup>a</sup>, Jr<sup>a</sup>, Wf<sup>a</sup> a další</p> <p>Klinicky <b>nevýznamné</b> antierytrocytární aloprotilátky          aloprotilátky proti antigenům P<sub>1</sub>, Le<sup>a,b</sup>, H, I, HI, N, Lu          nespecifické protilátky          chladové protilátky          protilátky reagující pouze v enzymovém prostředí</p>
---

**Tab. 1.** Rozdělení antierytrocytárních protilátek u těhotných žen z hlediska klinického významu pro riziko rozvoje Hemolytické nemoci plodu a novorozence (HDFN, Haemolytic Disease of the Fetus and Newborn) [8, 46, 62, 63, 70, 74, 75, 83, 84, 86, 87, 117, 123, 133, 186]

## 4.3 Krevně skupinové systémy

### 4.3.1 ABO SYSTÉM (ISBT 001) a H systém (ISBT 018)

ABO systém je jedním z nejdůležitějších systémů v transfuzní medicíně a zároveň také prvním objeveným antigenním systémem, a to Landsteinerem v roce 1901.

#### Dědičnost

Geny *H* a *ABO* řídí expresi antigenů "H" a "A", "B" na povrchu erytrocytů. Antigen "H" je prekurzorová substance, která vzniká připojením sacharidu L-fukózy k prekurzorovému oligosacharidovému řetězci. Přítomnost jen prekurzorové substance H na povrchu erytrocytu odpovídá krevní skupině 0, připojením dalšího specifického monosacharidu do oligosacharidového řetězce antigenu "H" vznikají antigeny "A" a "B" (Obr. 2, Obr. 3).

Geny *H* ani *ABO* tudíž nekódují syntézu samotných antigenů, ale kódují syntézu enzymů, které umožní upevnění dalších monosacharidů specifických pro antigen "H", "A" nebo "B".

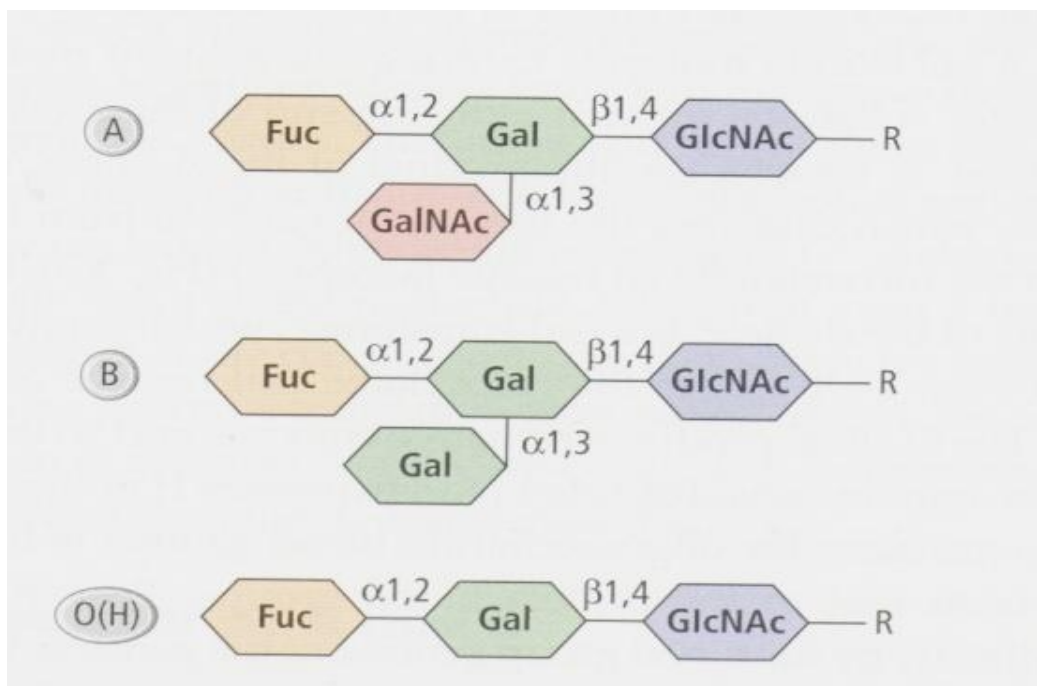
Gen *H* je lokalizován na 19. chromozomu a může mít alely *H* a *h*, kdy alela *h* je recesivní vůči alele *H*. Alela *H* kóduje syntézu enzymu H-transferázy, která umožní připojení L-fukózy ke galaktóze v prekurzorovém oligosacharidovém řetězci a dává tak vznik prekurzorovému "H" antigenu, který je imunodominantním antigenem krevní skupiny 0. Je-li přítomna pouze recesivní alela *h* (genotyp *h/h*), která nekóduje žádnou H-transferázu, nedochází k expresi H antigenu na povrchu erytrocytů. V případě totálního deficitu "H" antigenu vzniká velmi vzácný tzv. Bombay neboli  $O_h$  fenotyp, při částečném deficitu "H" antigenu tzv. Parabombay fenotyp [30, 48, 158].

Gen *ABO* je lokalizován na 9. chromozomu a může mít alely  $A_1$ ,  $A_2$ , *B*, *O* a sérii vzácných alel  $A_3$ ,  $A_X$  a  $A_m$  (atd). Alela *O* je ztrátová alela, která je recesivní vůči alelám *A* a *B*, jež jsou vůči sobě kodominantní [158]. Alela *A* kóduje syntézu enzymu A transferázy, která umožní připojení N-acetyl-galaktosaminu k "H" antigenu. N-acetyl-galaktosamin je terminálním a imunodominantním monosacharidem pro "A" antigen. Alela *B* kóduje syntézu enzymu B transferázy, která umožní připojení D-galaktózy k "H" antigenu. D-galaktóza je terminálním a imunodominantním monosacharidem pro "B" antigen. Alela *O* je ztrátová (klinicky nemá) alela, u které nebyl zjištěn žádný proteinový produkt [141]. K ABO systému patří šest

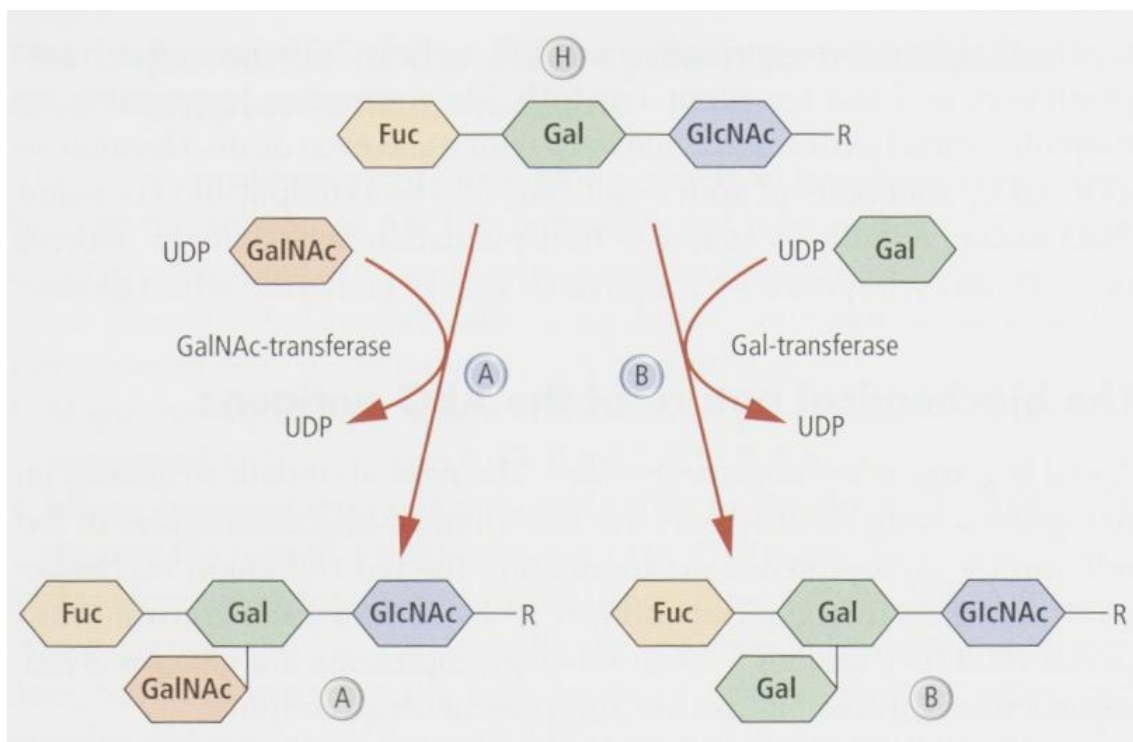
základních genotypů ( $A/A$ ,  $A/O$ ,  $B/B$ ,  $B/O$ ,  $A/B$ ,  $O/O$ ), kterým odpovídají čtyři fenotypy: A, B, AB a O.

Přehled jednotlivých krevních skupin včetně antigenů (fenotypů), přirozených protilátek a odpovídajících genotypů shrnuje tabulka č. 2 (Tab. 2).

Mourant a kol. [134] uvádí zastoupení jednotlivých krevních skupin (fenotypů) u evropské populace A 42 %, B 8 %, AB 3 % a O 47 %.



**Obr. 2.** Chemické složení ABO antigenů, L-fukóza (Fuc), D-galaktóza (Gal), N-acetyl-D-galaktózamin (GalNac), N-acetyl-D-glukózamin (GlcNac). Převzato od Daniels G., Bromilow I. Essential Guide to Blood Groups. 1st Edition, Blackwell Publishing, 2007; ISBN 97-1-4051-5349-2 [34]



**Obr. 3.** Biosyntéza antigenů A a B z jejich prekurzoru (H), L-fukóza (Fuc), D-galaktóza (Gal), N-acetyl-D- galaktózamin (GalNac), N-acetyl-D-glukózamin (GlcNac), uridindifosfát (UDP) .  
 Převzato od Daniels G., Bromilow I. Essential Guide to Blood Groups. 1st Edition, Blackwell Publishing, 2007; ISBN 97-1-4051-5349-2 [34]

Krevní skupina	Antigeny na erythrocytech (fenotyp)	Přirozené protilátky v séru	genotyp
0	žádné	anti-A, B	0/0
A	A	anti-B	A/A nebo A/0
B	B	anti-A	B/B nebo B/0
AB	A a B	žádné	A/B

**Tab. 2.** Přehled jednotlivých krevních skupin včetně antigenů (fenotypů), přirozených protilátek a odpovídajících genotypů

### Antigeny "A", "B" / protilátky anti-A, anti-B

ABO antigeny jsou koncové oligosacharidy glykoproteinů (65-75%) nebo glykolipidů (25-35%) erytrocytární membrány [34]. Antigeny "A", "B" a "H" jsou prokazatelné již u 3 - 4 týdenních embryí, nejsou však plně vyvinuty, neboť plné exprese dosahují až mezi 8. a 20. rokem života [30].

Protilátky ABO systému jsou přirozeně se vyskytující protilátky proti chybějícím antigenům na povrchu erytrocytů, které vznikají přirozenou imunizací jedince zevními substancemi podobnými antigenům "A" a "B" (bakteriální antigeny). Tyto protilátky jsou imunoglobuliny třídy IgM a jsou detekovatelné v séru novorozence nejdříve od 3. měsíce věku [30, 33, 158]. Imunizací jedince antigeně inkompatibilními erytrocyty může dojít ke vzniku imunních protilátek třídy IgG. K imunizaci dochází po podání krevní transfuze nebo následkem fetomaternální hemoragie v souvislosti s těhotenstvím. Protilátky třídy IgG již mohou procházet placentou a je-li na erytrocytech plodu přítomen komplementární antigen, může dojít k rozvoji HDFN. U plodu a novorozence jsou však antigeny "A" a "B" exprimovány jen velmi slabě [32, 44]. K rozvoji anémie u plodu proto dochází jen velmi vzácně, hemolýza bývá nižšího stupně a prakticky nikdy nevede k rozvoji klinicky závažné fetální anémie. Hemolytická nemoc se většinou rozvíjí až u novorozence a až za několik dnů po porodu, většinou rovněž nemá závažný průběh [158].

Při ABO inkompatibilitě mezi matkou a plodem se HDFN nejčastěji rozvíjí u matek s krevní skupinou 0. Inkompatibilita mezi matkou a plodem v systému ABO je častější než RhD inkompatibilita. V evropské populaci je ABO inkompatibilita přítomna u 25 % těhotenství a RhD u 10 % těhotenství [131]. V případě fetomaternální hemoragie představuje inkompatibilita v systému ABO pro těhotnou ženu přirozený ochranný faktor před vznikem RhD aloimunizace. ABO + RhD inkompatibilní fetální erytrocyty jsou v krevním oběhu těhotné ženy rychle hemolyzovány přirozenými protilátkami ABO systému. K senzibilizaci fetálním RhD antigenem tudíž nemusí dojít a těhotná žena si nevytvoří aloprotilátku anti-D. Riziko RhD aloimunizace těhotné ženy při současné ABO inkompatibilitě je asi 1,5 % [115], vs. 16 % bez této inkompatibility.



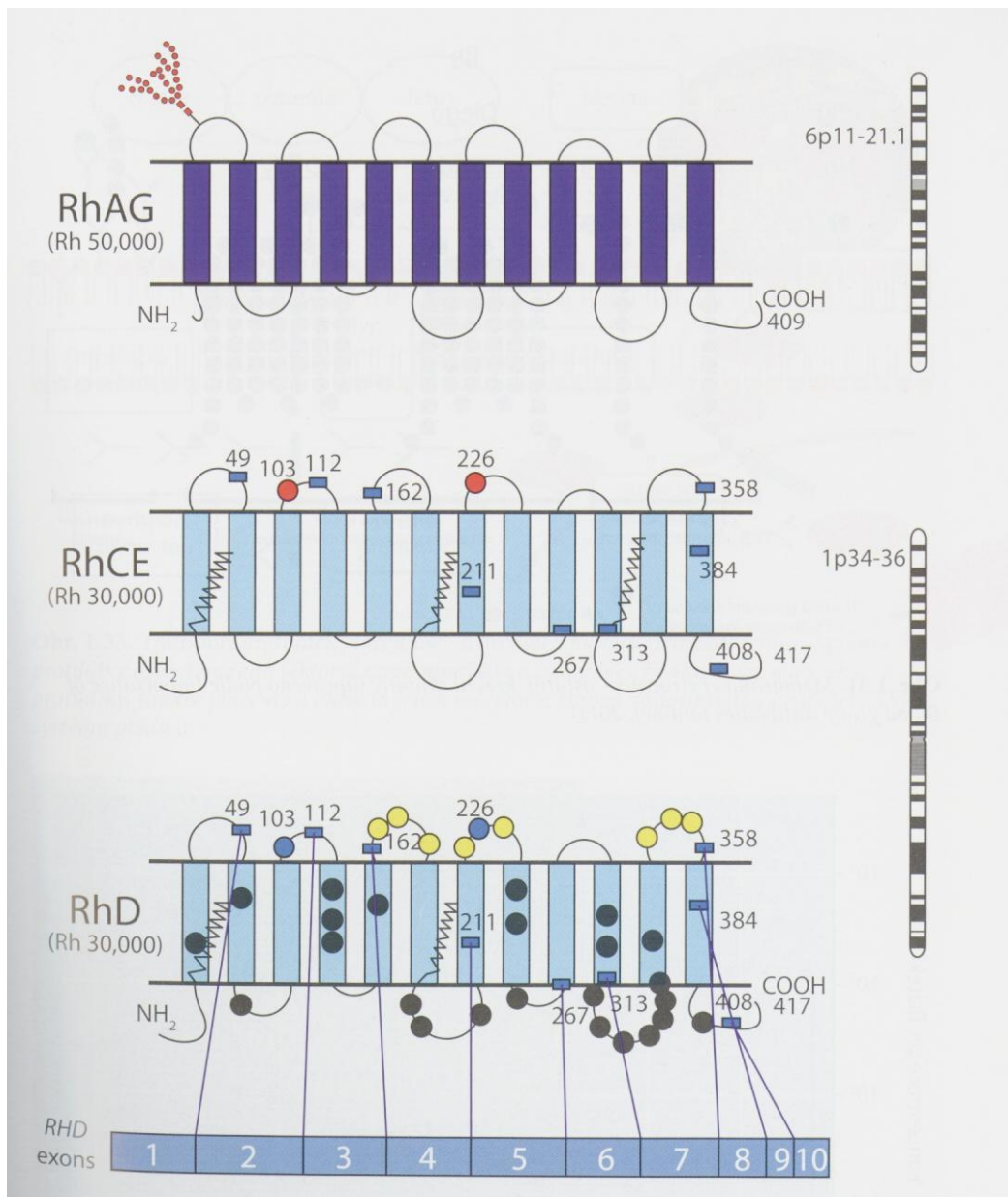
### 4.3.2 Rh SYSTÉM (ISBT 004)

Rh systém je druhý nejvýznamnější systém krevních skupin objevený Landsteinerem v roce 1939, když v séru ženy po porodu našel protilátku proti antigenu plodu, jež zdědil po otci [141]. K nejvýznamnějším antigenům Rh systému, kterých je identifikovaných více než 50 [158], patří antigeny "D", "C", "c", "E" a "e". Jedinec s exprimovaným "D" antigenem na povrchu erytrocytů je označován jako RhD pozitivní, jedinec s chybějícím "D" antigenem je označován jako RhD negativní. Proti Rh antigenům se nevyskytují přirozené protilátky (výjimečně anti-E), k tvorbě protilátek proti antigenům Rh systému dochází vždy až po stimulaci imunitního systému antigeně inkompatibilními erytrocyty po podání krevní transfuze nebo následkem fetomaternální hemoragie v souvislosti s těhotenstvím [141].

#### Dědičnost

Rh antigeny jsou kódovány dvěma blízko sebe ležícími homologními geny *RHD* a *RHCE*, které podléhají autozomálně dominantnímu typu dědičnosti a jsou umístěny na krátkém raménku 1. chromozomu. *RHD* a *RHCE* geny kódují proteiny RhD a RhCcEe, které jsou oba tvořeny polypeptidovým řetězcem o 417 aminokyselinách, který 12x prochází erytrocytární membránou. Na vnější straně vytváří šest smyček, kde jsou lokalizovány vlastní antigeny. RhD protein se od RhCcEe proteinu liší 31 až 35 aminokyselinami (Obr. 4). *RHD* gen produkuje "D" antigen, *RHCE* gen produkuje antigeny "C", "c", "E" a "e" [33]. Gen *RHD* má dvě alely *D/d*, kdy alela *D* je dominantní k alele *d*, která je ztrátovou (klinicky němou) alelou, neboť její produkt nebyl nikdy nalezen. Gen *RHCE* má čtyři alely *CE*, *Ce*, *cE*, *ce*, které jsou vůči sobě kodominantní a uvedené kombinace alel se dědí neoddělitelně od sebe, proto název genový komplex. Může tak vzniknout až osm genových komplexů (haplotypů) (Tab. 3): *CDe*, *cde*, *cDE*, *cDe*, *Cde*, *cdE*, *CDE* a *CdE* (řazeno sestupně dle výskytu u kavkazské populace). Dvojice těchto genových komplexů, jako např. *CDe/cde*, potom určuje genotyp. Některé genotypy a odpovídající fenotypy, se vyskytují častěji než jiné. Nejčastější genotypy jsou *CDe/cde* a *CDe/CDe* a představují přibližně 55 % genotypů kavkazské rasy [1]. Přehled Rh fenotypů s jejich možnými genotypy a jejich frekvence výskytu v bělošské populaci zobrazuje tabulka č. 4 (Tab. 4) [19].

Pro expresi všech Rh antigenů je nezbytný RhAG (Rh-associated glycoprotein), který je kódován *RHAG* genem lokalizovaným na krátkém raménku 6. chromozomu. Rh antigeny jsou exprimovány pouze na buňkách erytroidní linie a na fetálních erytrocytech jsou exprimovány již od 6. gestačního týdne. Velmi vzácně mohou Rh antigeny na erytrocytech zcela chybět, potom hovoříme o tzv. Rh<sub>null</sub> fenotypu.



**Obr. 4.** Model topologie proteinů RhAG, RhCE a RhD. Převzato od Avent, N., Finning K., Martin, P., Soothill, P. Prenatal determination of fetal blood group status. *Vox Sang* 2000, 78 (Suppl.2), p. 155-162 [8]

**RhAG** ( $M_r$  50 000) je tvořen 409 aminokyselinami a je kódován genem *RHAG* na krátkém raménku 6. chromozomu (6p11 – p21.1).

**RhCE a RhD** ( $M_r$  30 000) mají podobnou topologii a jsou kódovány geny *RHCE* a *RHD*, které se nachází v těsné blízkosti na krátkém raménku 1. chromozomu (1p34 – p36). Domény RhD

proteinu kódované jednotlivými exony jsou zobrazeny číslovanými úseky, které představují začátek a konec každého exonu. Polypeptidové řetězce proteinů RhCE a RhD se oba skládají z 417 aminokyselin a odlišují se od sebe ve 32 (30 – 35) aminokyselinách, 8 aminokyselin je lokalizováno v extracelulárních kličkách (žluté kroužky) a 24 aminokyselin se nachází v intramembranových nebo intracytoplazmatických doménách (černé kroužky). Červené kroužky zobrazují aminokyseliny rozhodující pro polymorfismus RhCE proteinu: antigeny C/c (serin/prolin na pozici 103 polypeptidového řetězce) ve druhé extracelulární kličce a antigeny E/e (prolin/alanin na pozici 226 polypeptidového řetězce) ve čtvrté extracelulární kličce. Fialové kroužky zobrazují aminokyseliny Serin v pozici 103 a Alanin v pozici 226 polypeptidového řetězce RhD proteinu.

Haplotype			Frequencies		
CDE	Rh-Hr	Numerical	English	Nigerian	Chinese
<i>D</i> Ce	<i>R</i> <sup>1</sup>	<i>RH</i> 1,2,-3,-4,5	0.4205	0.0602	0.7298
<i>d</i> ce	<i>r</i>	<i>RH</i> -1,-2,-3,4,5	0.3886	0.2028	0.0232
<i>D</i> cE	<i>R</i> <sup>2</sup>	<i>RH</i> 1,-2,3,4,-5	0.1411	0.1151	0.1870
<i>D</i> ce	<i>R</i> <sup>o</sup>	<i>RH</i> 1,-2,-3,4,5	0.0257	0.5908	0.0334
<i>d</i> cE	<i>r</i> <sup>''</sup>	<i>RH</i> -1,-2,3,4,-5	0.0119	0	0
<i>d</i> Ce	<i>r</i> <sup>'</sup>	<i>RH</i> -1,2,-3,-4,5	0.0098	0.0311	0.0189
<i>D</i> CE	<i>R</i> <sup>z</sup>	<i>RH</i> 1,2,3,-4,-5	0.0024	0	0.0041
<i>d</i> CE	<i>r</i> <sup>y</sup>	<i>RH</i> -1,2,3,-4,-5	0	0	0.0036

**Tab. 3. 8** Rh haplotypů a jejich frekvence výskytu v bělošské, černošské populaci a u obyvatel dálného východu. Převzato od Daniels, G. Human Blood Groups, 2nd.ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2002 [19]

Antigens					Phenotype	Genotypes	Frequency (%)	Other antigens						
D	C	c	E	e				ce	Ce	CE	cE	G		
+	+	-	-	+	DcE/DcE	$R_1R_1$	$DcE/DcE$	$R^1/R^1$	17.68	-	+	-	-	+
							$DcE/dcE$	$R^1/r^1$	0.82					
+	-	+	+	-	Dce/dce	$R_2R_2$	$DcE/DcE$	$R^2/R^2$	1.99	-	-	-	+	+
							$DcE/dcE$	$R^2/r^2$	0.34					
+	-	+	-	+	DCE/DCE	$R_0r$	$Dce/dce$	$R^0/r$	2.00	+	-	-	-	+
							$Dce/Dce$	$R^0/R^0$	0.07					
+	+	-	+	-	DCE/dce	$R_2R_z$	$DCE/DCE$	$R^z/R^z$	<0.01	-	-	+	-	+
							$DCE/dCE$	$R^z/r^z$	<0.01*					
+	+	+	-	+	DcE/dce	$R_1r$	$DcE/dce$	$R^1/r$	32.68	+	+	-	-	+
							$DcE/Dce$	$R^1/R^0$	2.16					
							$Dce/dcE$	$R^0/r^1$	0.05					
+	-	+	+	+	DcE/dce	$R_2r$	$DcE/dce$	$R^2/r$	10.97	+	-	-	+	+
							$DcE/Dce$	$R^2/R^0$	0.73					
							$Dce/dcE$	$R^0/r^2$	0.06					
+	+	-	+	+	DCE/DCE	$R_1R_z$	$DcE/DCE$	$R^1/R^z$	0.20	-	+	+	-	+
							$DCE/dce$	$R^z/r^1$	<0.01					
							$Dce/dCE$	$R^1/r^z$	<0.01*					
+	+	+	+	-	DcE/DCE	$R_2R_z$	$DcE/DCE$	$R^z/R^z$	0.07	-	-	+	+	+
							$DCE/dce$	$R^z/r^z$	<0.01					
							$DcE/dCE$	$R^z/r^z$	<0.01*					
+	+	+	+	+	DcE/DcE	$R_1R_2$	$DcE/DcE$	$R^1/R^2$	11.87	-	+	-	+	+
							$DcE/dcE$	$R^1/r^2$	1.00					
							$Dce/dcE$	$R^2/r^1$	0.28					
							$DCE/dce$	$R^z/r$	0.19					
							$Dce/DCE$	$R^0/R^z$	0.01					
							$Dce/dCE$	$R^0/r^z$	<0.01*					
-	+	-	-	+	dCe/dce	$r^1r^1$	$dCe/dce$	$r^1r^1$	0.01	-	+	-	-	+
-	-	+	+	-	dcE/dcE	$r^2r^2$	$dcE/dcE$	$r^2r^2$	0.01	-	-	-	+	-
-	-	+	-	+	dce/dce	rr	$dce/dce$	rr	15.10	+	-	-	-	-
-	+	-	+	-	dCE/dCE	$r^y r_y$	$dCE/dCE$	$r^y r^y$	<0.01*	-	-	+	-	+
-	+	+	-	+	dCe/dce	$r^1r$	$dCe/dce$	$r^1r$	0.76	+	+	-	-	+
-	-	+	+	+	dcE/dce	$r^2r$	$dcE/dce$	$r^2r$	0.92	+	-	-	+	-
-	+	-	+	+	dCe/dCE	$r^1r_y$	$dCe/dCE$	$r^1r^y$	<0.01*	-	+	+	-	+
-	+	+	+	-	dcE/dCE	$r^2r_y$	$dcE/dCE$	$r^2r^y$	<0.01*	-	-	+	+	+
-	+	+	+	+	dcE/dce	$r^2r^1$	$dcE/dce$	$r^2r^1$	0.02	-	+	-	+	+
						$dCE/dce$	$r^y r$	<0.01*	+	-	+	-	+	

\*Extremely rare.

**Tab. 4.** Rh fenotypy s jejich možnými genotypy a jejich frekvence výskytu v bělošské populaci. Převzato od Daniels, G. Human Blood Groups, 2nd.ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2002 [19]

### Antigen "D" / protilátka anti-D

Objeven jako první antigen z tohoto systému. Je zároveň hlavním a nejvýznamnějším antigenem Rh systému. Antigen "D" je silně imunogenní, protože u RhD negativních jedinců chybí celý RhD protein se všemi antigenními epitopy. Imunitní systém RhD negativních jedinců velmi dobře rozpozná RhD pozitivní erytrocyty a dochází k tvorbě anti-D protilátky [30]. Pronikne-li tedy dostatečné množství RhD pozitivních erytrocytů do krevního oběhu RhD negativní těhotné ženy, mohou způsobit rozvoj RhD aloimunizace. Objem inkompatibilních erytrocytů, nezbytně nutný k vyvolání aloimunizace, je individuální a závisí jak na imunogenicitě RhD pozitivních fetálních erytrocytů, tak i na reaktivitě imunitního systému těhotné ženy. Již objem 0,1 ml fetálních erytrocytů může vést k rozvoji aloimunizace. Přibližně u 1-2 % těhotenství dochází k aloimunizaci již antepartálně [26, 69]. Specifická antierytrocytární aloprotilátka anti-D je schopná vyvolávat závažnou formu HDFN [33, 34]. Intenzita hemolytické nemoci je vystupňována četností gravidit. Není-li aloimunizace matky diagnostikována, nebo HDFN léčena, může vést k závažné perinatální morbiditě a mortalitě [111]. Před zavedením anti-D imunoprolaxe byla aloprotilátka anti-D odpovědná za 90 % těžkých případů HDFN [158].

Existuje množství odchylek v expresi "D" antigenu. Slabé D ( $D^{\text{weak}}/D^{\text{w}}$ ) = kvantitativní zeslabení exprese "D" antigenu. Všechny D epitopy jsou exprimovány slabě a jedinci si při kontaktu s erytrocyty s normální expresí "D" antigenu nevytváří protilátky anti-D. " $D^{\text{weak}}$ " erytrocyty méně často než normální "D" erytrocyty stimulují tvorbu anti-D protilátek u RhD negativních jedinců a rovněž tak "D" pozitivní plod je také méně často ohrožen závažnou formou HDFN v případě RhD aloimunizace u matky [131]. Variantní "D" ( $D^{\text{variant}}/D^{\text{v}}$ ) = kvalitativní zeslabení exprese "D" antigenu. Některé epitopy "D" antigenu nejsou exprimovány a při kontaktu s "D" pozitivními erytrocyty si jedinci s " $D^{\text{variant}}$ " fenotypem mohou vytvářet protilátky proti D epitopům, které na povrchu jejich erytrocytů chybí. Bylo popsáno více než 20 variantních "D" antigenů, ale většina z nich se vyskytuje velmi vzácně. U bílé populace jsou nejčastější " $D^{\text{VI}}$ " a " $D^{\text{VII}}$ ", u Afričanů " $D^{\text{III}}$ " [7, 56, 168]. Vytvoří-li si žena s  $D^{\text{variant}}$  fenotypem protilátky anti-D, může dojít k rozvoji závažné formy HDFN u "D" pozitivního plodu [32]. U žen s  $D^{\text{variant}}$  fenotypem (zejména u " $D^{\text{VI}}$ ") je proto důležité provést prevenci RhD aloimunizace [120].

### *Incidence antigenu "D" v populaci*

Antigen "D" je přítomen u 82-88 % evropské populace a severoamerické bělošské populace, u 95 % černošské populace a u obyvatel dálného východu dosahuje výskyt "D" antigenu téměř 100 % [34]. RhD pozitivní jedinci se dělí na heterozygoty pro alelu *D*, kterých se v bělošské populaci vyskytuje přibližně 60 % a na homozygoty pro alelu *D*, kterých se v bělošské populaci vyskytuje přibližně 40 % [1, 33].

### *Incidence protilátky anti-D u těhotných žen*

Íluhušký a kol. uvádí incidenci aloprotilátky anti-D 5,0 ‰ [107], Geifman-Holtzman a kol. [59] uvádí ve svém souboru incidenci 2,7 ‰.

### *Incidence RhD inkompatibilních těhotenství*

Přibližně 15 % bílé populace je RhD negativní a RhD negativní žena má tedy asi 85% pravděpodobnost, že její partner bude RhD pozitivní (60 % heterozygot a 40 % homozygot pro alelu *D*). Přibližně v 10 % všech těhotenství tudíž nastává situace, že RhD negativní matka bude mít RhD pozitivní plod [10, 34, 69].

### Antigeny "C", "c" a "E", "e" / protilátky anti-C, anti-c, anti-E, anti-e

Antigeny "C", "c" a "E", "e" jsou mnohem méně imunogenní než antigen "D". Všechny protilátky proti antigenům Rh systému by měly být považovány za schopné způsobit závažnou formu HDFN. Klinicky nejvýznamnější z non RhD protilátek je protilátka anti-c, která je schopna způsobit závažnou formu HDFN. Velmi často se jedná o opožděnou hemolýzu. Její hemolytický potenciál je velmi podobný protilátce anti-D [67, 185]. Až v polovině případů je jako příčina aloimunizace popisována inkompatibilní transfuze [12]. Protilátky anti-C, anti-E, anti-e mohou rovněž způsobit HDFN, ale většinou se jedná o mírnou formu a závažnou hemolýzu způsobují jen zřídka [17, 67, 82, 169, 177].

### *Incidence antigenů "C", "c", "E", "e" v populaci*

Antigen "C" je přítomen u 68 % bělošské populace, 17 % černošské populace a u 94 % obyvatel dálného východu. Antigen "c" je přítomen u 81 % bělošské populace, 99 % černošské populace a u 43 % obyvatel dálného východu. Antigen "E" je přítomen u 29 % bělošské populace, 23 % černošské populace a 36 % obyvatel dálného východu. Antigen "e"



je přítomen u 98 % bělošské populace, 99 % černošské populace a 96 % obyvatel dálného východu [34].

*Incidence protilátek anti-C, anti-c, anti-E, anti-e u těhotných žen*

Ľubušký a kol. uvádí incidenci aloprotilátky anti-E 5,1 ‰, anti-C 1,3 ‰ a anti-c 0,6 ‰ [107]. Geifman-Holtzman a kol. [59] uvádí incidenci anti-E 2,0 ‰ (77/37506), anti-c 0,8 ‰ (32/37506) a anti-C 0,7 ‰ (26/37506).

### 4.3.3 KELL SYSTÉM ( ISBT 006)

Systém KELL je tvořen 27 antigeny (Tab. 5) a každý z nich je označen jménem, písmennou zkratkou a číslem (např. Kell, K a KEL1). Tento antigenní systém byl objeven v roce 1946 hned po objevení antiglobulinového testu [38]. Nejběžnější antigeny spojené s HDFN jsou alelické antigeny Kell (K, KEL1) a Cellano (k, KEL2). Další antigeny, které jsou asociovány s HDFN jsou: Penny (Kp<sup>a</sup>, KEL3), Rautenberg (Kp<sup>b</sup>, KEL4), Peltz (Ku, KEL5), Sutter (Js<sup>a</sup>, KEL6), Matthews (Js<sup>b</sup>, KEL7), Karhula (Ul<sup>a</sup>, KEL10) a KEL22 [28, 31, 64, 96, 157, 160]. V následujícím textu budou již jednotlivé antigeny označovány vždy jen písmennou zkratkou.

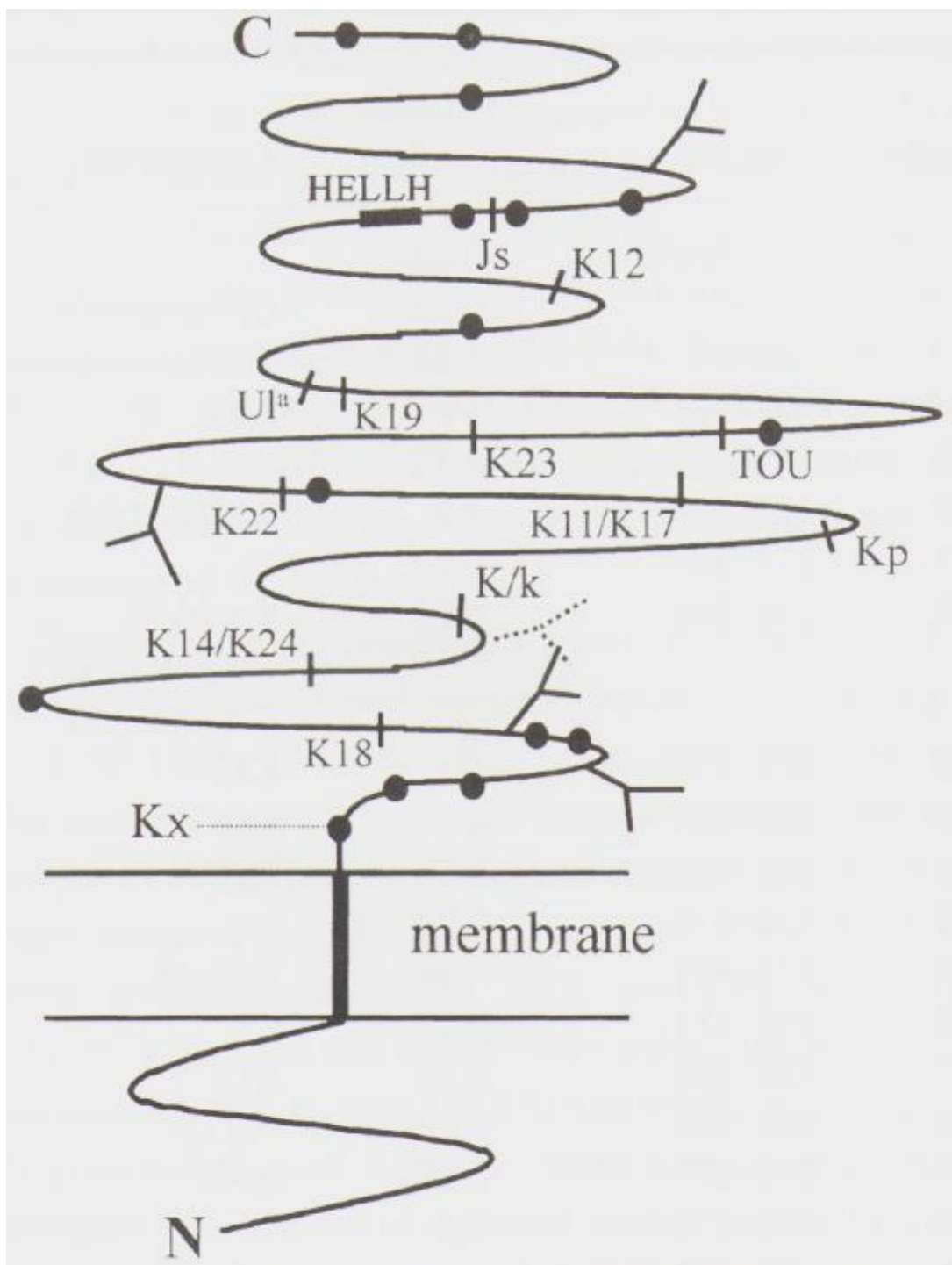
#### Dědičnost

*KEL* gen je lokalizován na 7. chromozomu, je organizován 19 exony v kódující sekvenci a je vysoce polymorfní. *KEL* gen má 2 hlavní kodominantní alely *K* a *k*, které jsou výsledkem jednonukleotidového polymorfismu (698T→C) a korespondující antigeny “K” a “k” se liší jednou aminokyselinou (M193T) [38]. *KEL* gen kóduje KELL glykoprotein, který prostupuje erytrocytární membránou pouze 1x a extramembranózně má velkou doménu, na které se exprimují všechny antigeny systému KELL (Obr. 5). KELL glykoprotein je strukturální a sekvenční homolog s rodinou na zinku závislých neutrálních endopeptidáz, což naznačuje, že zřejmě hraje významnou roli v růstu a diferenciaci erytrocytů [127]. KELL glykoprotein je asociován s XK proteinem (produkt *XK* genu na X chromozomu), který 10x prochází erytrocytární membránou a jsou na něm lokalizovány antigeny “K<sub>x</sub>” a “K<sub>m</sub>” (Obr. 6). Velmi vzácné chybění XK proteinu výhradně u chlapců je zodpovědné za tzv. McLeodův fenotyp, kdy chybí antigeny “K<sub>x</sub>” a “K<sub>m</sub>”, a ostatní KELL antigeny jsou exprimovány velmi slabě. Přítomnost XK proteinu v membráně erytrocytů při současném chybění celého KELL glykoproteinu se označuje jako vzácný K<sub>0</sub> fenotyp. Jedinci s K<sub>0</sub> fenotypem mohou produkovat protilátku anti-Ku, která může způsobit hemolýzu všech erytrocytů, v jejichž membráně se KELL glykoprotein nachází [33, 38]. V literatuře je uvedeno nejméně devět aloprotilátek proti KELL antigenům v souvislosti s rozvojem HDFN [34, 127].

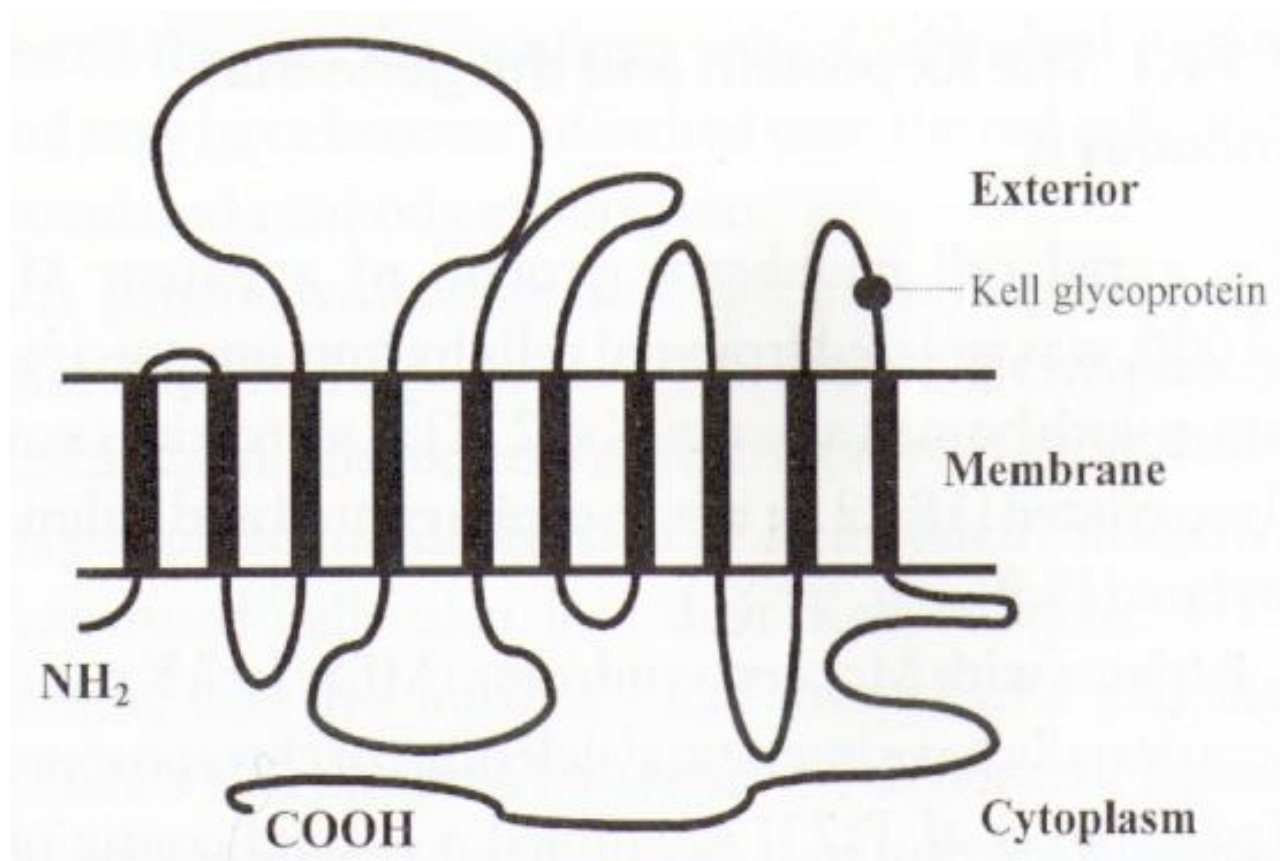
No.	Name	Relative frequency	Allelic antigens	Molecular basis*
KEL1	K	Low	k	Met193 (Thr)
KEL2	k	High	K	Thr193 (Met)
KEL3	Kp <sup>a</sup>	Low	Kp <sup>b</sup> , Kp <sup>c</sup>	Trp281 (Arg or Gln)
KEL4	Kp <sup>b</sup>	High	Kp <sup>a</sup> , Kp <sup>c</sup>	Arg281 (Trp or Gln)
KEL5	Ku	High		Complex
KEL6	J <sub>s</sub> <sup>a</sup>	Low	J <sub>s</sub> <sup>b</sup>	Pro597 (Leu)
KEL7	J <sub>s</sub> <sup>b</sup>	High	J <sub>s</sub> <sup>a</sup>	Leu597 (Pro)
KEL10	U <sup>a</sup>	Low		Val494 (Glu)
KEL11	K11 (Côté)	High	K17	Val302 (Ala)
KEL12	K12 (Boc)	High		His548 (Arg)
KEL13	K13	High		
KEL14	K14 (San)	High	K24	Arg180 (Pro, His, or Cys)
KEL16	'k-like'	High		
KEL17	K17 (Wk <sup>a</sup> )	Low		Ala302 (Val)
KEL18	K18	High		Arg130 (Trp or Gln)
KEL19	K19 (Sub)	High		Arg492 (Gln)
KEL20	Km	High		
KEL21	Kp <sup>c</sup>	Low	Kp <sup>a</sup> , Kp <sup>b</sup>	Gln281 (Arg or Trp)
KEL22	K22	High		Ala322 (Val)
KEL23	K23	Low		Arg382 (Gln)
KEL24	K24 (Cl <sub>s</sub> )	Low	K14	Pro180 (Arg)
KEL25	VLAN	Low		Arg248 (Gln)
KEL26	TOU	High		Arg406 (Gln)
KEL27	RAZ	High		Glu299 (Lys)
XK1	Kx	High		Complex

\*Shown in parentheses are the amino acids associated with an antigen-negative phenotype.  
 Obsolete: KEL8, previously Kw; KEL9, previously KL; KEL15, Kx (now XK1).

**Tab. 5.** Antigeny Kell a Kx krevněskupinového systému. Převzato od Daniels, G. Human Blood Groups, 2nd.ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2002 [19]



**Obr. 5.** Znárodnění Kell glykoproteinu, ukazující pozici N-glykanů (Y), cysteinových reziduí (•), HELLH sekvence, která je charakteristická na zinku závislou endopeptidázovou aktivitou a substituce aminokyselin, jež jsou odpovědné za Kell polymorfismus. Převzato od Daniels, G. Human Blood Groups, 2nd.ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2002 [19]



**Obr. 6.** Model topologie Kx proteinu v membráně erytrocytu, zobrazující cytoplazmatický konec, 10 membránových domén a (•) Cys347, který je vázán disulfidovou vazbou s Cys72 Kell glykoproteinu. Převzato od Daniels, G. Human Blood Groups, 2nd.ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2002 [19]

### Antigen "K" / protilátka anti-K

Nejvíce imunogenním antigenem Kell systému je antigen "K", který je po "D" antigenem druhým nejvíce imunogenním antigenem [3, 25, 38, 50, 183]. Protilátky anti-K mohou způsobovat závažnou formu HDFN [32, 122]. Nejčastější příčinou aloimunizace v Kell systému je inkompatibilní krevní transfuze [122]. Závažnost HDFN lze jen obtížně předpovědět, protože korelace mezi hladinou aloprotilátky anti-K a stupněm fetální anemie je jen velmi malá. Byl popsán i případ těhotenství s hydropsem plodu v 17. týdnu gravidity, kdy titr anti-K byl v 16. týdnu pouze 1:2 [178]. HDFN způsobená mateřskou aloprotilátkou anti-K se liší od HDFN způsobené mateřskou aloprotilátkou anti-D, protože kromě hemolýzy inkompatibilních erytrocytů může aloprotilátka anti-K způsobovat ještě útlum krvevorbny jejich prekurzorů v kostní dřeni. Je jisté, že KELL glykoprotein se na membráně erytroidních progenitorových buněk objevuje mnohem dříve než Rh proteiny [34, 35, 36, 160]. HDFN způsobená aloprotilátkou anti-K je spojena s nižší hladinou bilirubinu v plodové vodě než HDFN způsobená aloprotilátkou anti-D a ani postnatálně nebývá přítomna významná hyperbilirubinémie. Nižší je rovněž i hladina retikulocytů a erytroblastů. Tyto údaje nasvědčují tomu, že u stejně závažné HDFN způsobené anti-K ve srovnání s HDFN způsobenou anti-D je menší podíl hemolýzy [34].

### *Incidence antigenu "K" v populaci*

Antigen "K" se vyskytuje u 10 % bělošské populace a u 2 % černošské populace. V Arábii a na Sinajském poloostrově je naopak incidence "K" antigenu až 25 %. "K" pozitivní jedinci se dělí na heterozygoty pro alelu *K* (*Kk*) - 98 % bělochů a prakticky 100 % Afroameričanů a homozygoty pro alelu *K* (*KK*) [38].

### *Incidence protilátky anti-K u těhotných žen*

Ľubušký a kol. uvádí incidenci aloprotilátky anti-K 1,2 ‰ [107], Geifman-Holtzman a kol. [59] uvádí incidenci anti-K 3,0 ‰ (115/37506). Výskyt anti-K protilátky se v posledních letech zvýšil z 1,6/100 v polovině 60. let 20. století na 3,2/1000 do roku 1995 [59, 127, 146]. Příčina nebyla zatím zcela objasněna.

### *Incidence "K" inkompatibilních těhotenství*

U bělošské populace má "K" negativní žena (90 %) pravděpodobnost 10 %, že její partner bude "K" pozitivní (většinou heterozygot pro alelu K), a tudíž 5% pravděpodobnost, že bude mít "K" pozitivní plod [38, 127].

### Antigen "k" / protilátka anti-k

Jedná se o vysokofrekventní antigen [38], naopak incidence aloprotilátky anti-k u těhotných žen je velmi nízká. Z hlediska rizika rozvoje závažné formy HDFN je aloprotilátka anti-k řazena mezi významné aloprotilátky, avšak vzhledem k velmi nízkému výskytu u těhotných žen lze klinický význam pro riziko rozvoje HDFN jen velmi obtížně posoudit [14, 45, 90, 97].

#### 4.3.4 MNS SYSTÉM (objeven v roce 1927) – ISBT 002

Zahrnuje 46 antigenů. Mezi nejznámější antigeny patří antigeny “M”, “N”, “S”, “s” a v černošské populaci antigen “U”. MNS systém je kódován dvěma geny – *GYP A* (gen pro glykophorin A) a *GYP B* (gen pro glykophorin B), které jsou lokalizovány na 4. chromozomu. Párové antigeny “M” a “N” jsou na glykophorinu A (GPA) a párové antigeny “S” a “s” jsou na glykophorinu B (GPB) [38, 158]. Jde o druhý nejpolymorfnější systém po Rh systému (Obr. 7).

##### Antigeny “M” a “N” / protilátky anti-M a anti-N

Protilátka anti-M je relativně běžně přirozeně se vyskytující protilátka, zatímco protilátka anti-N se vyskytuje vzácně. Většina anti-M a anti-N protilátek je při teplotě 37°C inaktivních a jsou tedy klinicky nevýznamné [34]. Vzácně může dojít ke konverzi anti-M protilátky třídy IgM na IgG, která je schopna procházet placentou a v tom případě může způsobit i závažnou formu HDFN [125]. V souvislosti s aloprotilátkou anti-M bylo popsáno 6 případů závažné formy HDFN [46, 57, 85, 114, 119, 163] a pouze jeden případ závažné formy HDFN v souvislosti s aloprotilátkou anti-N [166].

##### *Incidence antigenů “M”, “N” v populaci*

Antigen “M” je přítomen u 78 % kavkazské populace a u 74 % afroameričanů, antigen “N” u 72 % kavkazské populace a u 75 % afroameričanů [38].

##### *Incidence protilátek anti-M, anti-N u těhotných žen*

Łubušký a kol. uvádí incidenci aloprotilátky anti-M 1,4 ‰ [107], Geifman-Holtzman a kol. [59] uvádí nález anti-M u 0,5 ‰ (19/37506) a anti-N u 0,0 ‰ (1/37506) vyšetřovaných žen.

##### Antigeny “S” a “s” / protilátky anti-S a anti-s

Protilátka anti-S se vyskytuje častěji než protilátka anti-s a obě jsou schopny způsobit i závažnou hemolýzu. Byly popsány tři případy závažné formy HDFN způsobené aloprotilátkou anti-S [49, 98, 121] a čtyři případy závažné formy HDFN způsobené aloprotilátkou anti-s [60]. V ostatních případech se jednalo pouze o mírnou formu HDFN [37, 49].



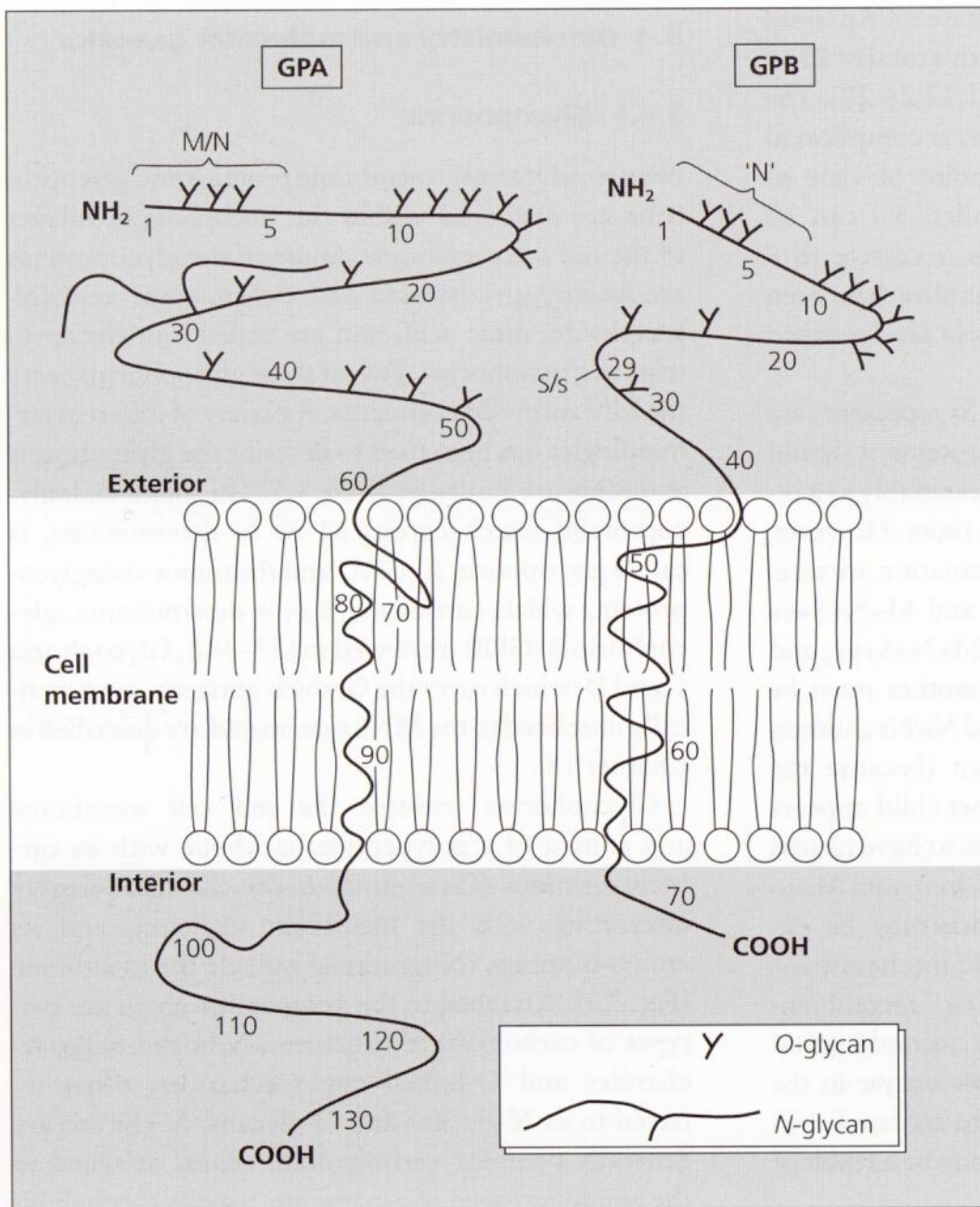
Mezi další protilátky systému MNS, které by mohly způsobit HDFN, řadíme protilátky anti-U, anti-Mi<sup>a</sup>, anti-Mt<sup>a</sup>, anti-En<sup>a</sup>, anti-Vw, anti-Mur, anti-Hut, anti-Hil, anti-Mv, anti-Far, anti-s<sup>D</sup>, anti-Or a anti-MUT [38].

*Incidence antigenů "S", "s" v populaci*

Antigen "S" je přítomen u 55 % kavkazské populace a u 31 % afroameričanů a antigen "s" u 89 % kavkazské populace a u 93 % afroameričanů [38].

*Incidence protilátek anti-S, anti-s u těhotných žen*

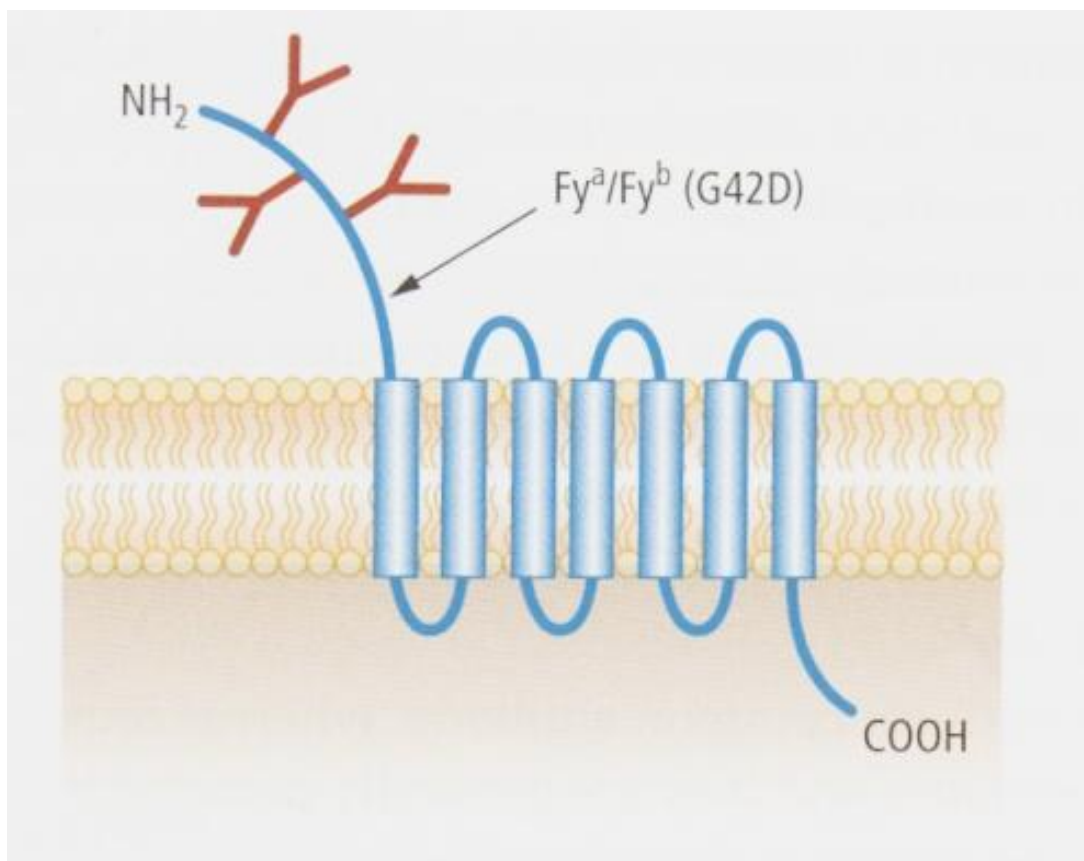
Љubušký a kol. uvádí incidenci výskytu aloprotilátky anti-S 0,4 ‰ [107], Geifman-Holtzman a kol. [59] uvádí nález anti-S u 0,1 ‰ (4/37506) vyšetřovaných žen.



**Obr. 7.** Schéma znázorňující glykophorin A (GPA) a glykophorin B (GPB) a jejich umístění v membráně erytrocytu. Převzato od Daniels, G. Human Blood Groups, 2nd.ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2002 [19]

#### 4.3.5 DUFFY SYSTÉM (ISBT 008)

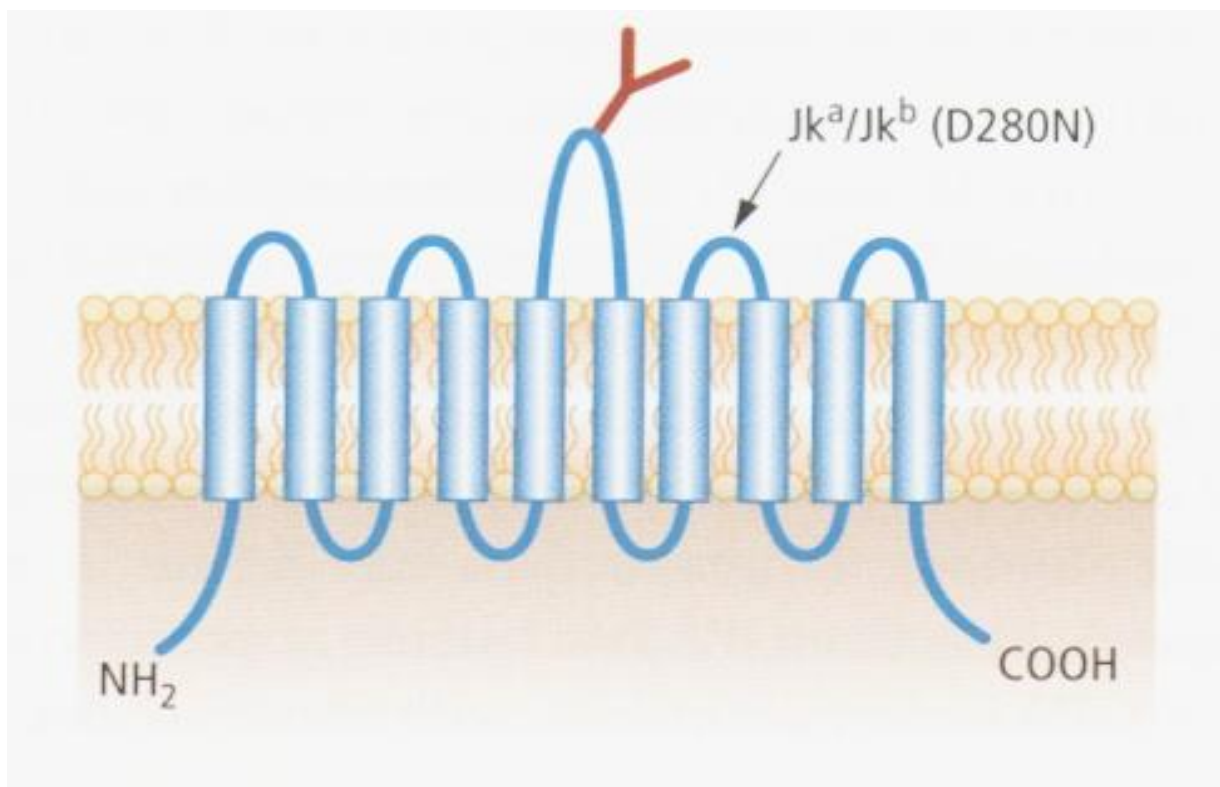
Tento antigenní systém zahrnuje celkem 6 antigenů. Gen pro Duffy systém (*DARC*) je uložen na 1. chromozomu a kóduje Duffy antigeny ("Fy<sup>a</sup>", "Fy<sup>b</sup>", "Fy3", "Fy4", "Fy5", "Fy6") [38]. Klinicky nejvýznamnější jsou alelické antigeny "Fy<sup>a</sup>" (FY1) a "Fy<sup>b</sup>" (FY2) (Obr. 8). Protilátky anti-Fy<sup>a</sup> a anti-Fy<sup>b</sup> jsou třídy IgG a nejsou detekovány v enzymových testech, neboť antigeny "Fy<sup>a</sup>" a "Fy<sup>b</sup>" jsou citlivé vůči proteázovým enzymům, které je štěpí [158]. Protilátky anti-Fy<sup>a</sup> a anti-Fy<sup>b</sup> jsou schopny způsobit i závažnou formu HDFN [9, 59, 63, 182, 184].



**Obr. 8.** Schéma Duffy glykoproteinu. Převzato od Daniels G., Bromilow I. Essential Guide to Blood Groups. 1st edition, Blackwell Publishing, 2007; ISBN 97-1-4051-5349-2 [34]

#### 4.3.6 KIDD SYSTÉM (ISBT 009)

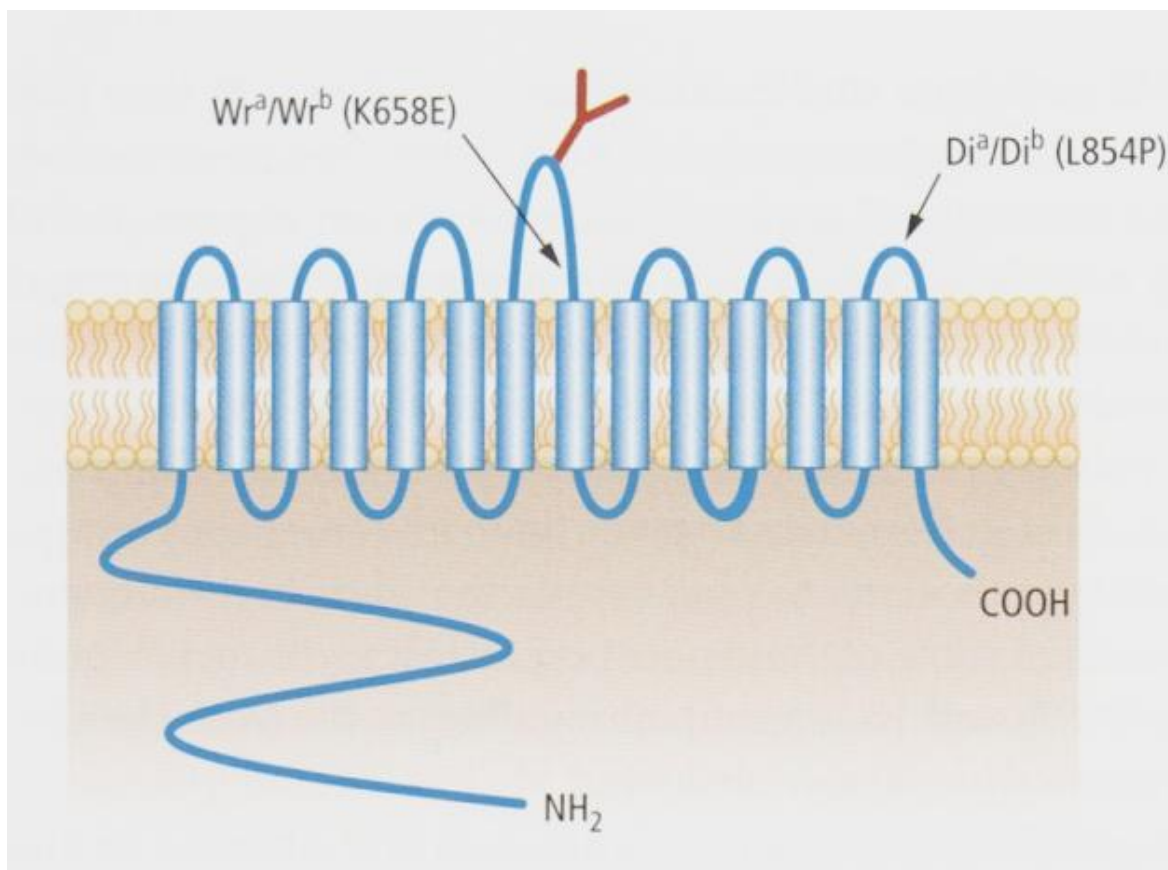
Tento antigenní systém zahrnuje 3 antigeny: "Jk<sup>a</sup>", "Jk<sup>b</sup>" a "Jk<sup>3</sup>". Gen *SLC14A1* kódující klinicky nejvýznamnější alelické antigeny "Jk<sup>a</sup>" a "Jk<sup>b</sup>" je lokalizován na 18. chromozomu (Obr. 9). Aloprotilátky anti-Jk<sup>a</sup> a anti-Jk<sup>b</sup> jsou třídy IgG, jsou schopny aktivovat komplement, procházejí placentou a mohou tedy způsobovat různé formy HDFN. HDFN, způsobená těmito aloprotilátkami, je poměrně vzácná, avšak byly popsány i případy velmi těžké formy s fatálními následky [86, 116]. Aloprotilátky anti-Jk<sup>a</sup> a anti-Jk<sup>b</sup> jsou velmi dobře detekovány antiglobulinovým technikami, ačkoli některé slabé protilátky lze velmi dobře zachytit i enzymovými technikami [158].



**Obr. 9.** Schéma Kidd glykoproteinů. Převzato od Daniels G., Bromilow I. Essential Guide to Blood Groups. 1st edition, Blackwell Publishing, 2007; ISBN 97-1-4051-5349-2 [34]

#### 4.3.7 SYSTÉM DIEGO (ISBT 010)

Tento systém se skládá z 21 antigenů. Diego antigeny jsou kódovány *SLC4A1* genem, který je lokalizován na 17. chromozomu. Mezi nejvýznamnější antigeny patří antigeny “Di<sup>a</sup>”, “Di<sup>b</sup>” a “Wr<sup>a</sup>” (Obr. 10). Antigen “Di<sup>a</sup>” se u Evropanů vyskytuje vzácně, mnohem častěji se vyskytuje u původních obyvatel severní a jižní Ameriky, kde dosahuje až 54 %. Protilátky anti-Di<sup>a</sup> mohou způsobit závažnou formu HDFN a i přes nízkou incidenci ve většině populací byla popsána řada případů HDFN [4, 92, 167]. Anti-Di<sup>b</sup> mohou způsobit hemolýzu vyžadující provedení výměnné transfuze u novorozence [43, 95, 171]. Rovněž protilátky anti-Wr<sup>a</sup> a anti-ELO proti vzácně se vyskytujícím antigenům systému Diego mohou způsobit závažnou formu HDFN [153].



**Obr. 10.** Schéma Diego glykoproteinů. Převzato od Daniels G., Bromilow I. Essential Guide to Blood Groups. 1st edition, Blackwell Publishing, 2007; ISBN 97-1-4051-5349-2 [34]



#### 4.3.8 SYSTÉM LUTHERAN (ISBT 005)

Z tohoto antigenního systému jsou dobře známy antigeny "Lu<sup>a</sup>" (nízká frekvence výskytu) a "Lu<sup>b</sup>" (vysoká frekvence výskytu). Aloprotilátka anti-Lu<sup>a</sup> bývá obvykle třídy IgM, anti-Lu<sup>b</sup> třídy IgG. Klinický význam pro HDFN však nemají, neboť jsou jen slabě exprimovány na fetálních erythrocytech [158].

#### 4.3.9 P SYSTÉM (ISBT 003)

Z tohoto systému je dobře známý pouze antigen "P<sub>1</sub>", který je asociován s antigeny "P", "P<sup>k</sup>" a "LKE", které ovšem nejsou součástí P systému. Aloprotilátka anti-P<sub>1</sub> bývá obvykle třídy IgM a většinou bývá chladové povahy. Příležitostně lze zachytit formu reagující při 37°C. Anti-P<sub>1</sub> váže komplement. Výskyt HDFN v souvislosti s touto imunizací těhotné nebyl zaznamenán [158].

## 4.4 Laboratorní diagnostika

V rámci komplexního prenatálního vyšetření by měla být do konce 14. týdne těhotenství u každé těhotné ženy vyšetřena krevní skupina AB0 a RhD a proveden screening nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek. V případě positivity screeningu by měla být provedena identifikace a event. kvantifikace protilátkového nálezu.

### 4.4.1 Vyšetření krevní skupiny AB0 + RhD

Příslušnost k jednotlivým krevním skupinám v AB0 systému určuje přítomnost nebo nepřítomnost antigenu (aglutinogenu) "A" a/nebo "B" na povrchu erytrocytů a dvou přirozeně se vyskytujících protilátek (aglutininů) anti-A a anti-B v séru. V krevním séru se vždy nachází protilátka proti antigenu, který není přítomen na vlastních erytrocytech. Vyšetření krevní skupiny v AB0 systému má být provedeno stanovením přítomnosti "A" a/nebo "B" antigenu (aglutinogenu) na erytrocytech minimálně pomocí monoklonálního diagnostického séra anti-A, anti-B. Současně musí být vyšetřeny i přirozeně se vyskytující protilátky (aglutininy) anti-A a anti-B v séru pomocí typových erytrocytů A<sub>1</sub> a B. [47, 141].

Termínem RhD pozitivní se označuje přítomnost "D" antigenu nebo jeho slabé/variantní formy (D weak/variant, D<sup>w/v</sup>) na vyšetřovaných erytrocytech. Erytrocyty, na kterých se antigen "D" nenachází, jsou označovány jako RhD negativní. Vyšetření přítomnosti/nepřítomnosti antigenu "D" na erytrocytech těhotné ženy musí být provedeno pomocí 2 monoklonálních diagnostických sér anti-D třídy IgM s různými klony, jež nedetekují variantu "D<sup>vl</sup>". Testování na "D<sup>w/v</sup>" se v těhotenství rutinně nedoporučuje [47, 141].

Při vyšetření přítomnosti/nepřítomnosti "D" antigenu je nutné zařadit Rh kontrol, což je kontrolní diagnostikum, které neobsahuje anti-D protilátku, k vyloučení falešné positivity [47].

Vyšetření krevní skupiny AB0 RhD se provádí nejčastěji na mikrotitrační plotně, méně často pak ve zkumavkách nebo metodou sloupcové aglutinace na kartách.

#### 4.4.2 SCREENING nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek

Screening nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek umožňuje detekovat klinicky významné aloprotilátky, které mohou ohrozit plod i novorozence rozvojem závažné formy HDFN [62].

Screening nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek musí vždy obsahovat nepřímý antiglobulinový test (NAT) za použití erytrocytů resuspendovaných v roztoku o nízké iontové síle (LISS-NAT anti-IgG + anti-C3d) při 37°C [40, 47, 62, 83] nebo jinou srovnatelně citlivou metodou. Antiglobulinové techniky jsou charakterizovány vysokou senzitivitou při detekci klinicky významných protilátek třídy IgG (např. anti-D, anti-K) [148]. Jako doplňkové testy lze s výhodou použít testy enzymové, které detekují protilátky třídy IgG i IgM a zesilují reakce protilátek, zejména u systémů Rh, Kell a Kidd. Z enzymů se nejčastěji používají papain, bromelin a ficin. Enzymy zvyšují schopnost protilátek aglutinovat erytrocyty různými způsoby, například odštěpí extramembranózní část některých proteinů, čímž dojde k poklesu odpuzování erytrocytů, a ty se mohou více přiblížit. Rovněž mohou být více odhaleny antigeny v blízkosti membrány, a to zlepšuje jejich dostupnost pro vazbu protilátky třídy IgG. Naopak protilátky proti antigenům, které jsou citlivé vůči enzymům, nemohou být enzymovými testy detekovány, což se týká zejména systémů Duffy a MNS [141, 47].

Spolehlivost detekce nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek je závislá na dostupnosti diagnostických erytrocytů s vhodnými antigeny a na citlivosti použitých testovacích postupů. Požadavky na konfiguraci antigenního složení diagnostických screeningových erytrocytů jsou přísné a musí umožnit bezpečné stanovení všech klinicky významných aloprotilátek. Doporučuje se použití panelu 3 diagnostických erytrocytů s minimálním zastoupením následujících antigenů: "C", "C<sup>w</sup>", "c", "D", "E", "e", "K", "k", "Fy<sup>a</sup>", "Fy<sup>b</sup>", "Jk<sup>a</sup>", "Jk<sup>b</sup>", "S", "s", "M", "N", "Le<sup>a</sup>" [62]. Jedny screeningové diagnostické erytrocyty by měly mít fenotyp CDe/CDe (R<sub>1</sub>R<sub>1</sub>) a jedny fenotyp cDE/cDE (R<sub>2</sub>R<sub>2</sub>). V homozygotním zastoupení by měly být antigeny "Fy<sup>a</sup>", "Fy<sup>b</sup>", "Jk<sup>a</sup>", "Jk<sup>b</sup>", "S", "s" [47, 62]. Screeningové diagnostické erytrocyty se nesmějí používat ve směsi [62]. Vyšetření screeningu nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek se nejčastěji provádí metodou sloupcové aglutinace a pevné fáze, méně často pak zkumavkovou metodou.

#### 4.4.3 IDENTIFIKACE nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek

Identifikace nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek se provádí v případě, že je screeningové vyšetření pozitivní. Cílem je přesná identifikace protilátky, event. směsi protilátek, za použití identifikačního panelu typových erytrocytů. Identifikační panel typových erytrocytů musí obsahovat minimálně 8 diagnostických erytrocytů s tímto fenotypovým zastoupením: 1x fenotyp CDe/CDe ( $R_1R_1$ ) a CDe/CDeC<sup>w</sup>+ ( $R_1^wR_1$ ) a u obou musí být antigeny „K“, „k“, Fy<sup>a</sup>, „Fy<sup>b</sup>“, „Jk<sup>a</sup>“, „Jk<sup>b</sup>“, „S“, „s“, „M“, 1x fenotyp cDE/cDE ( $R_2R_2$ ), Cde/cde ( $r'r$ ) a cdE/cde ( $r''r$ ) a 2x fenotyp cde/cde (rr). U fenotypu cde/cde musí být také fenotypy K+, K-, Jk(a+b-), Jk(a-b+), S+s-, S-s+, Fy(a+b-), Fy(a-b+). Je-li identifikována specifická protilátka, musí být provedeno vyšetření komplementárního antigenu na erytrocytech těhotné ženy za účelem rozlišení, zda se jedná o aloprotilátku či autoprottilátku [47, 62]. Zpráva pro ošetřujícího lékaře by měla obsahovat informaci o klinické významnosti diagnostikované aloprotilátky z hlediska rizika rozvoje HDFN a doporučení k event. hemoterapii [62].

#### 4.4.4 KVANTIFIKACE (titrace) specifických klinicky významných aloprotilátek

Stanovení titru identifikovaných klinicky významných aloprotilátek u těhotných žen slouží k identifikaci těhotenství, která jsou při dosažení kritického titru ohrožena rozvojem závažné formy HDFN [62]. Po dosažení kritického titru by měla být HDFN sledována již jinou než imuno hematologickou metodou [47, 84, 140, 176].

Za kritický titr u aloprotilátek anti-D, -C, -E se považuje titr  $\geq 32$  v NAT (zkumavkovou metodou) nebo titr  $\geq 128$  v LISS-NAT metodou sloupcové aglutinace. U ostatních aloprotilátek titr  $\geq 64$  zkumavkovou metodou [16, 40, 47, 62, 82, 118, 139, 186], respektive  $\geq 128$  metodou sloupcové aglutinace. Hodnocení kritického titru závisí rovněž na anamnestických údajích z předchozích těhotenství [40, 84, 145, 170].

Při aloimunizaci antigenem „E“ nemusí ani vysoké hodnoty titru vést k rozvoji HDFN, naopak při aloimunizaci „K“ antigenem se může rozvinout závažná forma HDFN již při nízkém titru a za kritický titr anti-K aloprotilátky je považován již titr 4.

## 5 CÍL PRÁCE

Cílem práce bylo zjistit incidenci specifických, klinicky významných antierytrocytárních aloprotilátek u těhotných žen v prvním trimestru těhotenství v olomouckém regionu.

Jako specifické označujeme aloprotilátky, které jsou namířeny proti konkrétnímu antigenu nebo antigenům. Za klinicky významné antierytrocytární aloprotilátky považujeme u těhotných žen takové aloprotilátky, které v případě přítomnosti komplementárního antigenu na povrchu erytrocytů u plodu mohou způsobit rozvoj závažné formy HDFN.

## 6 SOUBOR A METODIKA

### Soubor pacientek

V letech 2000 až 2015 bylo na Transfuzním oddělení v Olomouci vyšetřeno celkem 54 657 žen v prvním trimestru těhotenství. U všech těhotných žen byl v prvním trimestru těhotenství (do konce 14. týdne) proveden screening nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek metodou sloupcové aglutinace. V případě pozitivního screeningu nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek byla provedena identifikace antierytrocytární aloprotilátky, a pokud se jednalo o specifickou, klinicky významnou aloprotilátku, tak byla následně provedena i kvantifikace aloprotilátky.

Do roku 2005 byly výsledky hodnoceny retrospektivně a následně již probíhala studie prospektivně. Vyhodnocení bylo prováděno na základě laboratorních výsledků uvedených v laboratorním informačním systému Transfuzního oddělení ISTO 2000, od 6. 6. 2012 pak ISTO 3300 a ve formuláři „Záznam o vyšetření gravidní ženy s pozitivními antierytrocytárními protilátkami“.

### Odběr vzorku

Vyšetření těhotných pacientek bylo prováděno ze vzorku žilní krve odebrané venepunkcí do zkumavky s antikoagulační látkou ( $K_3EDTA$ , tridraselná sůl kyseliny ethylendiamintetraoctové). Celkem bylo odebráno 6 ml krve, vzorky byly následně centrifugovány 10 minut/4000 otáček, poté byla provedena kontrola množství vzorku a makroskopicky i kontrola hemolýzy. Do provedení vyšetření byly vzorky skladovány v monitorované chladnici při teplotě  $+2\text{ }^{\circ}\text{C}$  až  $+8\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vyšetření bylo provedeno do 72 hodin od příjmu krevního vzorku na Transfuzní oddělení. Nebyly zpracovávány krevní vzorky starší 7 dnů od odběru.

### Laboratorní zpracování

Nejdříve byl proveden **screening** nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek v séru/plazmě metodou sloupcové aglutinace (DiaMed GmbH, Switzerland). V letech 2000 až 2009 byl screening nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek prováděn manuálně, a od dubna 2009 v souvislosti s automatizací provozu Laboratoře prenatální

imunohematologie byl prováděn na imunohematologickém analyzátoru TECHNO TwinStation (DiaMed AG, Switzerland). Samotná detekce nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek byla prováděna v nepřímém antiglobulinovém testu a enzymovém (papain) testu za použití diagnostických screeningových erytrocytů ID-DiaCell I-II-III a ID-DiaCell I-II-III-P (DiaMed GmbH, Switzerland) a gelových karet ID-Neutral/Coombs (DiaMed GmbH, Switzerland) s následnou inkubací při 37°C a centrifugací.

V případě pozitivního screeningu nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek byla vždy následně provedena **identifikace** protilátkového nálezu na systému sloupcové aglutinace (DiaMed GmbH, Switzerland) s použitím karet ID-Neutral a ID-LISS/Coombs (DiaMed GmbH, Switzerland) a diagnostických panelových erytrocytů ID-Dia Panel a ID-Dia Panel P (DiaMed GmbH, Switzerland) s následnou inkubací při 37°C a centrifugací. Nebylo-li možné uzavřít výsledek na základě vyšetření metodou sloupcové aglutinace (DiaMed GmbH, Switzerland), zejména pokud se jednalo o směs specifických antierytrocytárních aloprotilátek, byl jako referenční systém použit systém sloupcové aglutinace (GRIFOLS INTERNATIONAL, S.A., Spain) s použitím karet DG Gel Neutral (GRIFOLS INTERNATIONAL, S.A., Spain), DG Gel Coombs (GRIFOLS INTERNATIONAL, S.A., Spain) a diagnostických panelových erytrocytů Identisera Diana/Identisera Diana P (GRIFOLS INTERNATIONAL, S.A., Spain). Při identifikaci specifické, klinicky významné aloprotilátky v séru/plazmě těhotné ženy, byl následně vyšetřen i komplementární antigenní fenotyp na povrchu erytrocytů.

Ke **kvantifikaci** aloprotilátek byla použita metoda titrace systémem sloupcové aglutinace (DiaMed GmbH, Switzerland). Ředění plazmy bylo prováděno fyziologickým roztokem. K titraci aloprotilátek anti-D byly použity diagnostické erytrocyty s fenotypem R<sub>2</sub>R<sub>2</sub> (cDE). Pro titraci aloprotilátek anti-c a anti-E byly použity diagnostické erytrocyty s fenotypem R<sub>1</sub>R<sub>2</sub> (DCcEe) nebo R<sub>2</sub>R<sub>2</sub> (cDE). V případě aloprotilátek anti-C a anti-e byly použity diagnostické erytrocyty s fenotypem R<sub>1</sub>R<sub>2</sub> (DCcEe) nebo R<sub>1</sub>R<sub>1</sub> (CDe). Pro ostatní aloprotilátky byly vždy použity erytrocyty, na jejichž povrchu byla přítomna kombinace všech variant pro protilátku komplementárního antigenu.

## 7 VÝSLEDKY

Celkem bylo vyšetřeno 54 657 těhotných žen v I. trimestru těhotenství, z toho u 5,4 % (2954/54 657) žen byl screening nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek pozitivní a bylo následně nutné provést identifikaci protilátky. U 2,5 % (1366/54 657) žen byla protilátka identifikována, u 1,7 % (899/54 657) žen se jednalo z hlediska možného rozvoje HDFN o specifickou, klinicky významnou aloprotilátku, kterou bylo tudíž nutné i kvantifikovat. Uvedený výpočet incidence jednotlivých typů protilátek nezohledňuje možnost současného výskytu více typů specifických aloprotilátek u jedné těhotné ženy. Incidenci nepravidelných antierytrocytárních protilátek u žen v I. trimestru těhotenství v olomouckém regionu v letech 2000 až 2015 podrobně zobrazuje tabulka č. 6 (Tab. 6). Incidenci specifických, klinicky významných antierytrocytárních aloprotilátek podrobně zobrazuje tabulka č. 7 (Tab. 7). Incidenci RhD, Kell a Rhc aloimunizace v jednotlivých letech zobrazují grafy č. 1-3 (Graf 1-3).



antierytrocytární protilátky		incidence	
		n	%
pravidelné			
nepravidelné			
	chladové		
	tepelné	2954	5,40
	autoprotilátky		
	aloprotilátky		
	nespecifické		
	specifické	1366	2,50
	klinicky nevýznamné		
	klinicky významné		
	transfuzní kompatibilita		
screening	identifikace	HDFN	899 1,70
		kvantifikace	

**Tab. 6. Incidence nepravidelných antierytrocytárních protilátek u žen v I. trimestru těhotenství v olomouckém regionu v letech 2000 až 2015**

Celkem bylo vyšetřeno 54 657 těhotných žen v I. trimestru těhotenství, u 5,4 % žen byl screening nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek pozitivní a bylo následně nutné provést identifikaci protilátky. U 2,5 % žen byla protilátka identifikována, u 1,7 % žen se jednalo z hlediska možného rozvoje HDFN o klinicky významnou aloprotilátku, kterou bylo tudíž nutné i kvantifikovat. Uvedený výpočet incidence jednotlivých typů protilátek nezohledňuje možnost současného výskytu více typů specifických aloprotilátek u jedné těhotné ženy.

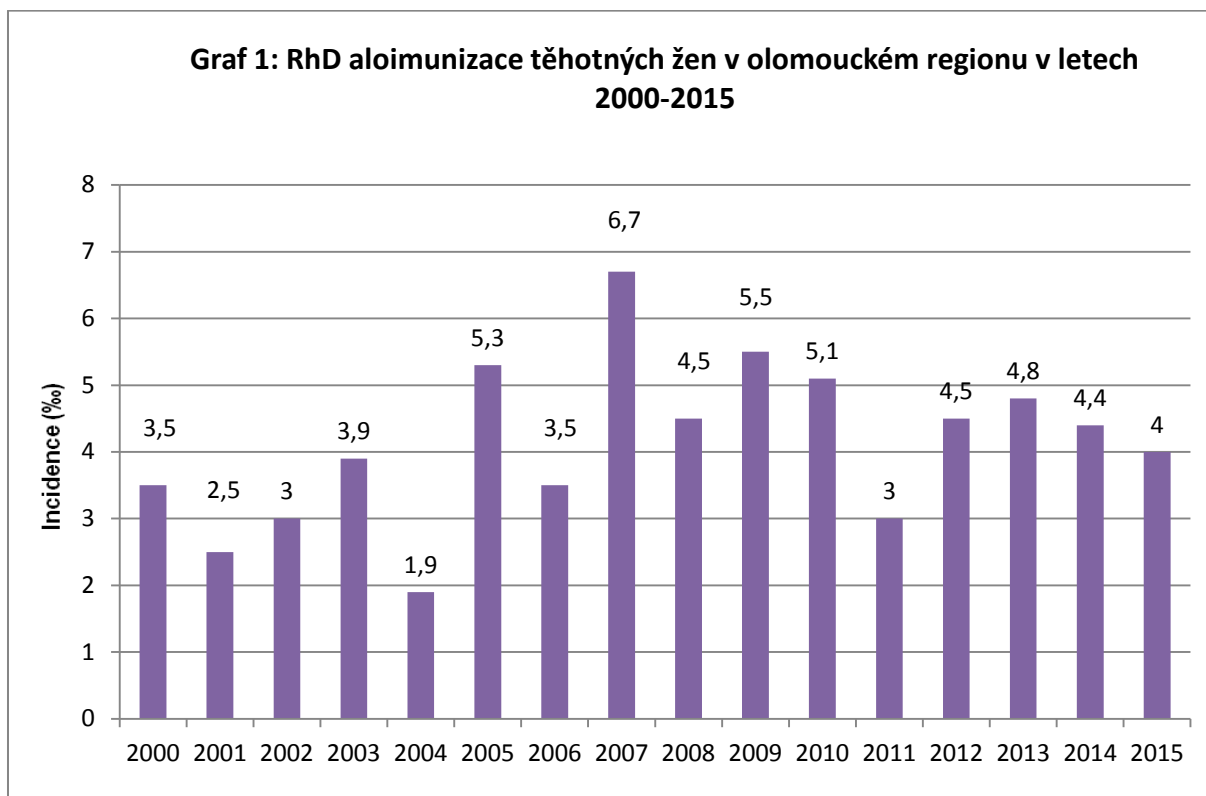
Rozdělení nepravidelných antierytrocytárních protilátek viz. kapitola 4.1.

Screening, identifikace a kvantifikace viz. kapitoly 4.4.2 - 4.4.4.

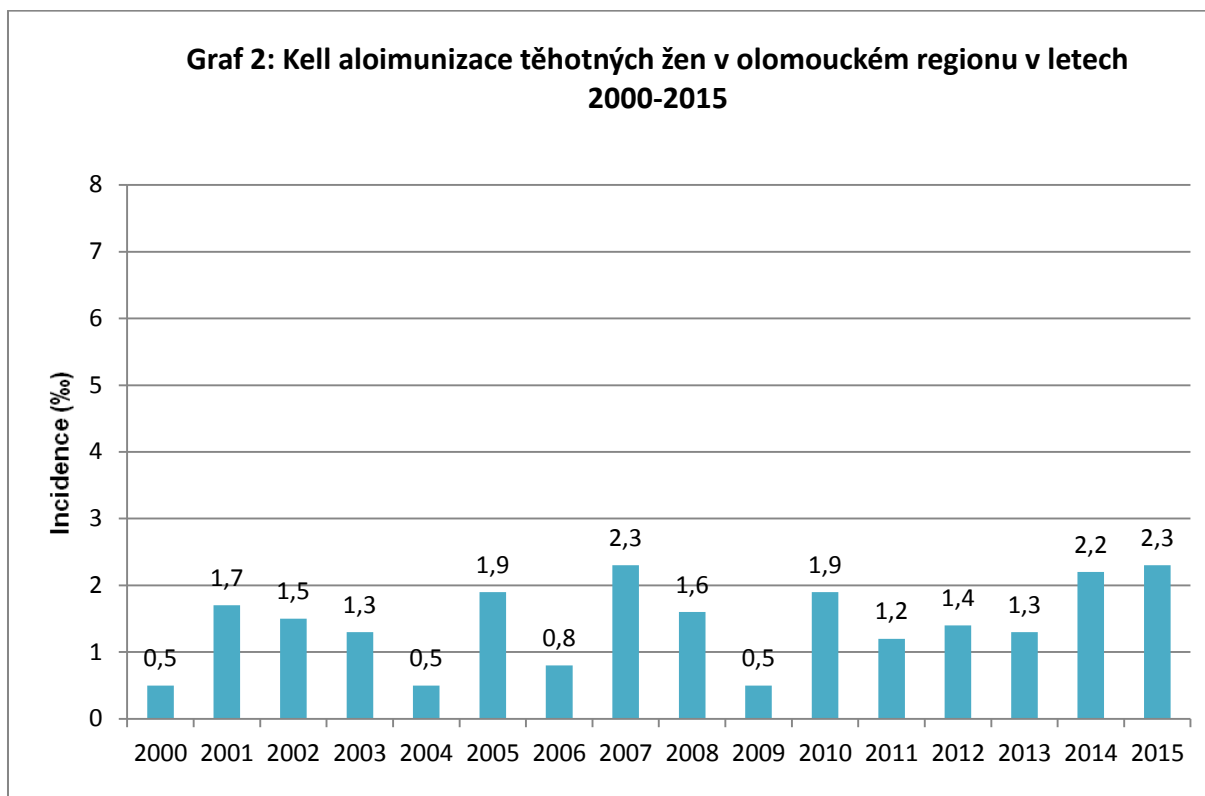
Krevně skupinový systém	Antigen	Antierytrocytární aloprotilátky	
		N	Incidence (‰)
Rh	D	222	4,1
	C	67	1,2
	c	47	0,9
	E	342	6,3
	e	9	0,2
Kell	K	71	1,3
MNSs	M	97	1,8
	S	23	0,4
Kidd	Jk <sup>a</sup>	11	0,2
Duffy	Fy <sup>a</sup>	6	0,1
P	P <sub>1</sub>	4	0,1

**Tab. 7. Incidence specifických, klinicky významných antierytrocytárních aloprotilátek u žen v I. trimestru těhotenství v olomouckém regionu v letech 2000 až 2015**

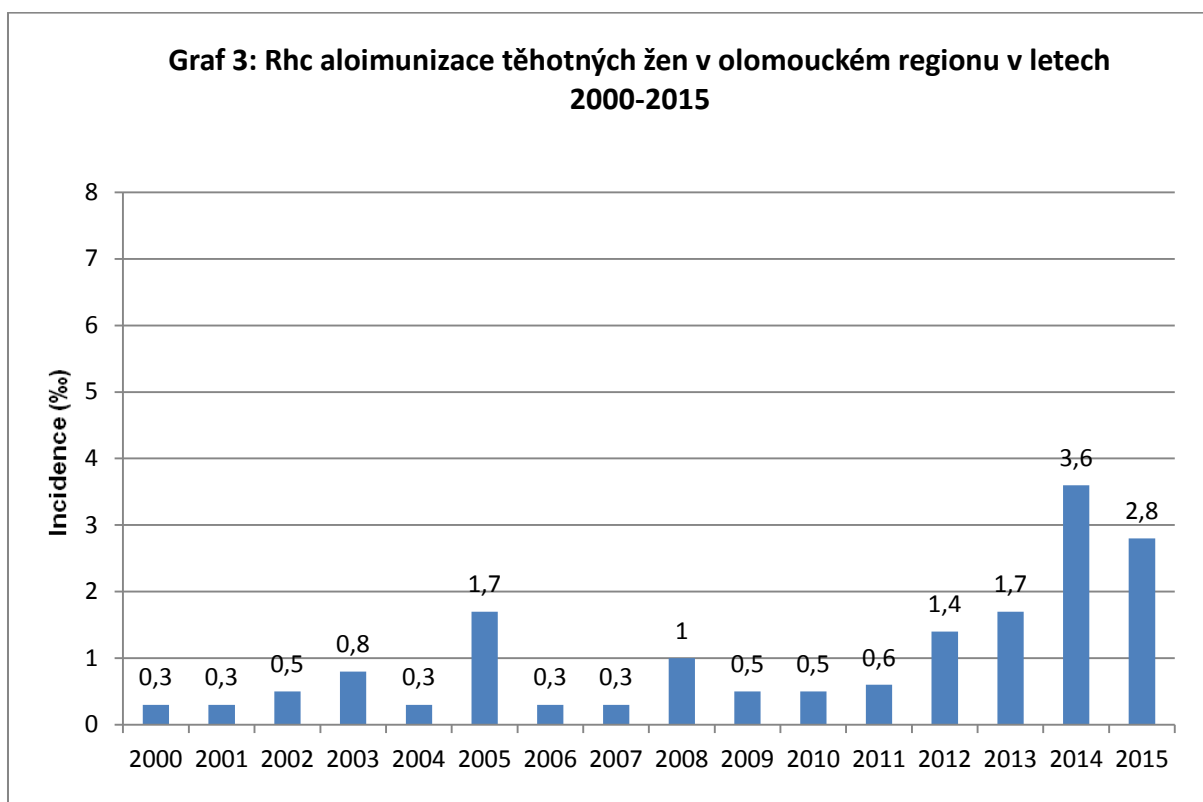
Celkem bylo vyšetřeno 54 657 žen.



**Graf 1. Incidence RhD aloimmunizace těhotných žen v I. trimestru těhotenství v olomouckém regionu v letech 2000-2015**



**Graf 2. Incidence Kell aloimunizace těhotných žen v I. trimestru těhotenství v olomouckém regionu v letech 2000-2015**



**Graf 3. Incidence Rhc aloimunizace těhotných žen v I. trimestru těhotenství v olomouckém regionu v letech 2000-2015**

## 8 DISKUSE

V rámci ČR se jedná o ojedinělý soubor pacientek, neboť v současné době neexistuje žádná jiná publikovaná práce, se kterou by bylo možné získaná data o incidenci antierytrocytárních protilátek u těhotných žen porovnat.

Přesná data o incidenci specifických, klinicky významných antierytrocytárních aloprotilátek u těhotných žen nejsou v ČR k dispozici. Rovněž výskyt závažných forem Hemolytické nemoci plodu a novorozence lze jen odhadovat, případy končící vzhledem k dramatickému průběhu úmrtím plodu již před 24. týdnem těhotenství unikají evidenci zcela.

Závažné formy HDFN způsobují nejčastěji antigeny RhD (85 %), Kell (KEL1) (10 %) a Rhc (3.5 %) [125, 143].

V našem souboru byly specifické, klinicky významné antierytrocytární aloprotilátky diagnostikovány v prvním trimestru těhotenství u 1,7 % žen. Nejčastější příčinou klinicky významné erytrocytární aloimunizace byl antigen "E" 6,3 ‰ (342/54 657), následován antigeny "D" 4,1 ‰ (222/54 657), "M" 1,8 ‰ (97/54 657), "K" 1,3 ‰ (71/54 657), "C" 1,2 ‰ (67/54 657), "c" 0,9 ‰ (47/54 657), "S" 0,4 ‰ (23/54 657), "Jk<sup>a</sup>" 0,2 ‰ (11/54 657), "PP<sub>1</sub>pk" (Tj<sup>a</sup>) 0,1 ‰ (4/54 657) a "Fy<sup>a</sup>" 0,1 ‰ (6/54 657).

Antigen "E" je méně imunogenní než antigen "D". Incidence aloprotilátky anti-E byla však v našem souboru nejvyšší, činila 6,3 ‰. Předpokládáme-li v České republice podobné výsledky, pak se při 100 000 porodech jedná asi o 630 aloimunizovaných těhotných žen ročně. Při přibližně 15% pravděpodobnosti, že budou mít RhE pozitivní plod, můžeme předpokládat asi 95 ohrožených plodů ročně. Protilátka anti-E je však jedna z mála protilátek, které mohou vznikat i přirozeně bez erytrocytárního antigenního podnětu. Takto vzniklá protilátka není aloprotilátkou a je tudíž otázkou, zda vůbec může způsobit HDFN. Antigen "D" je velmi imunogenní antigen. Přibližně 15 % jedinců bílé populace je RhD negativních a asi 2/3 RhD negativních žen bude mít v prvním těhotenství RhD pozitivní plod. Přibližně v 10 % všech těhotenství tudíž nastává situace, že RhD negativní těhotná žena bude mít RhD pozitivní plod [10, 69]. Incidence aloprotilátky anti-D byla v našem souboru 4,1 ‰. Předpokládáme-li v České republice podobné výsledky, pak se jedná při 100 000 porodech asi o 410 RhD aloimunizovaných těhotných žen ročně. Pokud dvě třetiny z nich budou mít RhD pozitivní plod, můžeme předpokládat asi 275 ohrožených plodů ročně. Všem

případům RhD aloimunizace však lze teoreticky zabránit profylaktickým podáním anti-D gamaglobulinu v potřebné dávce při každé potenciálně senzibilizující události [104, 110].

“K” antigen (KEL1) patří spolu s antigeny v systémech ABO a Rh k nejvíce imunogenním antigenům [38]. Incidence aloimunizace antigenem “K” (KEL1) byla v našem souboru 1,3 ‰. Předpokládáme-li v České republice podobné výsledky, tak se jedná při 100 000 porodech asi o 130 Kell (K, KEL1) aloimunizovaných těhotných žen ročně. Při 5% pravděpodobnosti, že budou mít “K” pozitivní plod, můžeme předpokládat asi 6 až 7 ohrožených plodů ročně. V České republice není ženám před ukončením reprodukčního období při transfuzi vždy podávána “K” (KEL1) kompatibilní nebo “K” (KEL1) negativní krev.

V jednom případě (1/54 657) byla u těhotné ženy s K<sub>0</sub> fenotypem (null fenotyp) diagnostikována aloprotilátka anti-Ku (incidence 0,02 ‰). K<sub>0</sub> fenotyp je vzácný fenotyp, kdy na povrchu erytrocytů chybí antigeny Kell systému. Jedinci s K<sub>0</sub> fenotypem produkují anti-Ku protilátku, která reaguje se všemi Kell antigeny, kromě K<sub>0</sub> fenotypu. K<sub>0</sub> fenotyp se vyskytuje velmi vzácně. Race et al. uvádí nález jednoho K<sub>0</sub> fenotypu na 24 953 testovaných bělochů [147]. Aloprotilátka anti-Ku je považována z hlediska HDFN za klinicky významnou aloprotilátku. Zajištění hemoterapie pro takovéto pacientky je velmi obtížné. Ve dvou případech byla u těhotných žen detekována aloprotilátka anti-Kp<sup>a</sup> (incidence 0,04 ‰). Anti-Kp<sup>a</sup> však způsobuje HDFN pouze vzácně, byl popsán pouze jeden případ hydropsu plodu [159].

Antigen “c” je druhý nejvíce imunogenní antigen z Rh systému. Incidence aloimunizace antigenem “c” byla v našem souboru 0,9 ‰. Předpokládáme-li v České republice podobné výsledky, tak se jedná při 100 000 porodech asi o 90 Rhc aloimunizovaných těhotných žen ročně. Pokud polovina z nich bude mít Rhc pozitivní plod, můžeme předpokládat asi 45 ohrožených plodů ročně. Její hemolytický potenciál je velmi podobný protilátce anti-D, ale na rozdíl od protilátky anti-D působí častěji opožděnou hemolýzu [67, 185].

RhD aloimunizace je v současnosti jediná erytrocytární aloimunizace, které lze zabránit včasným podáním anti-D imunoprofylaxe. Se zavedením imunoprofylaxe anti-D imunoglobulinem a standardizace postupu při antepartální profylaxi došlo k poklesu výskytu anti-D aloprotilátek u RhD negativních žen [104, 106, 108]. V ostatních antigenních systémech však možnost preventivní imunizace není a aloimunizace těhotných žen těmito klinicky významnými antigeny bude proto představovat riziko rozvoje Hemolytické nemoci u plodu a novorozence i v budoucnosti.

Geifman-Holtzman a kol. [59] vyšetřil ve svém souboru 37 506 krevních vzorků žen, z nichž 40 % bylo ve fertilním věku a diagnostikoval antierytrocytární aloprotilátky, které mohou být asociovány s HDFN u 1,1 % žen. Nejčastěji se jednalo o aloprotilátku anti-D 2,7 ‰ (101/37 506), dále pak anti-E 2,0 ‰ (77/37 506), anti-c 0,8 ‰ (32/37 506), anti-C 0,7 ‰ (26/37 506), anti-K 3,0 ‰ (115/37 506), anti-M 0,5 ‰ (19/37 506), anti-S 0,1 ‰ (4/37 506), anti-Fy<sup>a</sup> 0,8 ‰ (31/37 506) a anti-JK<sup>a</sup> 0,2 ‰ (8/37 506).

Výskyt aloprotilátky anti-D byl ve sledovaném souboru v porovnání s našimi výsledky nižší, což lze vysvětlit kvalitněji prováděnou prevencí RhD aloimunizace než je tomu v olomouckém regionu a pravděpodobně i v celé ČR. Naopak v našem souboru byl nižší výskyt Kell aloimunizace, což pravděpodobně souvisí se snahou podávat v ČR ženám ve fertilním věku při transfuzi Kell kompatibilní krev.

Více než polovinu tepelných antierytrocytárních protilátek diagnostikovaných u těhotných žen v olomouckém regionu v letech 2000 až 2015 tvořili nespecifické protilátky, které sice nemají klinický význam z hlediska Hemolytické nemoci plodu a novorozence, nicméně mohou komplikovat imunohematologické vyšetření těhotné ženy a způsobit komplikace při zajištění eventuální hemoterapie. Vysoká incidence nespecifických protilátek zcela jistě souvisí s prováděním screeningu i enzymovým testem (papain), který má větší senzitivitu při detekci protilátek zejména z Rh systému.



## 9 ZÁVĚR

I přes provádění prevence RhD aloimunizace u RhD negativních žen představuje RhD antigen stále druhou nejčastější, avšak klinicky nejvýznamnější příčinu mateřské aloimunizace v ČR. Klinickým problémem rovněž zůstává aloimunizace non D antigeny ze systému Rh, antigeny ze systému Kell, méně často pak antigeny ze systémů MNS a Kidd.

Je-li u těhotné ženy na začátku těhotenství diagnostikována klinicky významná aloprotilátka, je nutné zajistit adekvátní konzultaci pacientky se stanovením dalšího postupu na pracovišti s odborností gynekologie a porodnictví. Pokud nelze vyloučit riziko rozvoje HDFN, měla by být pacientka s ohledem na riziko rozvoje anémie plodu sledována na specializovaném pracovišti, které se zabývá touto problematikou. Nezbytná je mezioborová spolupráce gynekologa, imunohematologa a neonatologa. Standardní prenatální péče však může dále probíhat u ošetřujícího gynekologa.

## 10 DOPORUČENÍ K PROVÁDĚNÍ SCREENINGU NEPRAVIDELNÝCH ANTIERYTROCYTÁRNÍCH PROTILÁTEK V TĚHOTENSTVÍ

- U všech těhotných žen v prvním trimestru by měl být do konce 14. týdne proveden **screening nepravidelných antierytrocytárních protilátek.**
- Je-li výsledek screeningu **jiný než negativní**, je nezbytné zajistit **adekvátní konzultaci pacientky se stanovením dalšího postupu na pracovišti s odborností gynekologie a porodnictví.**
- **V případě pozitivního screeningu by měla být provedena identifikace protilátky, a pokud se jedná o specifickou, klinicky významnou aloprotilátku, tak by následně měla být provedena i její kvantifikace.** Z tohoto důvodu je vhodné provádět screening nepravidelných antierytrocytárních protilátek v imuno hematologické laboratoři, která je schopna rovněž provést i následné došetření protilátkového nálezu včetně identifikace a kvantifikace. **Zpráva z laboratoře by měla obsahovat informaci o klinické významnosti diagnostikované aloprotilátky z hlediska rizika rozvoje Hemolytické nemoci plodu a novorozence (HDFN).** Je tudíž nezbytná mezioborová spolupráce gynekologa a imuno hematologa.
- **Pokud nelze vyloučit riziko rozvoje HDFN, měla by být pacientka s ohledem na riziko rozvoje anémie plodu sledována na specializovaném pracovišti, které se zabývá touto problematikou. Standardní prenatální péče by měla probíhat u ošetřujícího gynekologa.**

## 11 LITERATURA

1. ACOG – American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Practise Bulletin No 75: management of alloimmunization, *Obstet Gynecol* 2006, 108, p. 457-464.
2. Adewuyi, J. O., Gwanzura, C. Racial diference between white and black Zimbabweans in the haemolytic activity of A, B, 0 antibodies. *Afr J Med Sci*, 2001, 30, p. 71 – 74.
3. Ahaded, A. Brossard, Y., Debbia, M., Lambin, P. Quantitative determination of anti-K (KELL 1) IgG and IgG subclasses in the serum of severely alloimmunized pregnant women by ELISA, *Transfusion* 2000, 40, p. 239-1245.
4. Alves de Lima, LM., Berthier, ME., Sad, WE., et al. Characterization of an anti-Dia antibody causing hemolytic disease in a newborn infant. *Transfusion* 1982, 22, p. 246-247.
5. Ascari, W. Q., Levine, P., Pollack, W. Incidence of maternal Rh immunization by ABO compatible and incompatible pregnancies. *Br Med J*, 1969, 1, p. 399-401.
6. Augustson B. M., Fong E. A., Grey D. E., et al. Postpartum anti-D: can we safely reduce the dose?. *MJA*, 2006, 184, p. 611-613.
7. Avent, ND. The Rhesus blood group systém: insights from recent advances in molecular biology, *Transfus. Med Rev* 1999, 13, p. 245-266.
8. Avent, N., Finning K., Martin, P., Soothill, P. Prenatal determination of fetal blood group status. *Vox Sang* 2000, 78 (Suppl.2), p. 155-162.
9. Babinszki, A., Berkowitz, RL. Haemolytic disease of the newborn caused by anti-c, anti-E and anti-Fy<sup>a</sup> antibodies: report of five cases, *Prenat Diagn* 1999, 19, p. 533-536.
10. Berghella, V. *Maternal-Fetal Evidence-Based Guidelines (Series in Maternal-Fetal Medicine)*, Informa-Healthcare Publishing, 1st. ed. 2007.
11. Berkowitz. R. L., Beyth, Y., Sadovsky, E. Death in utero due to Kell sensitization without excessive elevation of the delta OD450 value in amniotic fluid. *Obstet Gynecol*, 1982, 60, p. 746–749.
12. Bowell, PJ., Brown, SE., Dike AE., Inskip, MJ. The significance of anti-c alloimmunization in pregnancy, *Br. J. Obstet Gynaecol*, 1986, 93, 10, p. 1044-1048.

13. Bowman, J. M. Controversies in Rh prophylaxis. Who needs Rh immune globulin and when should it be given? *Am J Obstet Gynecol*, 1985, 151, p. 289–294.
14. Bowman, JM., Harman, CR., Manning, FA., Pollock, JM. Erythroblastosis fetalis produced by anti-k, *Vox. Sang.* 1989, 56, 3, p. 187-189, Erratum in: *Vox Sang*, 1990, 58, 2, p. 139.
15. Bowman, J. M., Pollock, J. M., Manning, F. A., et al. Maternal Kell blood group alloimmunization. *Obstet Gynecol*, 1992, 79, 2, p. 239-244.
16. Bowman, JM., Pollock, JM., Manning, FA., Harman, CR. Severe anti-C hemolytic disease of the newborn, *Am J Obstet Gynecol*, 1992, 166, 4, p. 1239-1243.
17. Bowman, JM., Pollock, JM. Maternal C<sup>w</sup> alloimmunization, *Vox Sang*, 1993, 63, p. 226-230.
18. Brecher, M. E. Technical Manual of the American Association of Blood Banks. American Association of Blood Banks, Bethesda, Maryland 2005.
19. Caine, M. E., Mueller-Heubach, E. Kell sensitization in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 1986, 154, p. 85-90.
20. Calda, P., Žižka, Z., Řežábek, K., et al. Diagnostika a terapie plodu ohroženého Rh izoimunizací. *Čes. Gynek.*, 1993, 58, s. 278-282.
21. Calda, P., Žižka, Z., Zlatohlávková, B., et al. Nové pohledy na erytrocytární izoimunizaci v těhotenství. *Neonatal. Listy*, 1998, 4, s. 8-11.
22. Calda, P., Žižka, Z., Zlatohlávková, B., et al. Diagnostika a léčba erytrocytární aloimunizace v těhotenství. *Čes. Gynek.*, 1998, 63, s. 170-175.
23. Calda, P. Příčiny, prevence a diagnostika aloimunizace v těhotenství. *Actual Gyn*, 2009; 1: s. 55-60.
24. Calhoun, D.A. Postnatal diagnosis and management of alloimmune hemolytic disease of the newborn. The UpToDate Database of Systematic Reviews 2012 (updated 1/2012).
25. Collinet, P., Subtil, D., Puech, F., Vaast, P. Successful treatment of extremely severe fetal anemia due to Kell alloimmunization, *Obstet Gynecol*, 2002, 100, p. 1102-1105.
26. Contreras, M. The prevention of Rh haemolytic disease of the fetus and newborn-general background. *Br J Obstet Gynaecol*, 1998, 105, p. 7-10.

27. Corfield, V. A., Moolman, J. C., Martell, R., Brink, P. A. Polymerase chain reaction-based detection of MN blood groupspecific sequences in the human genome. *Transfusion*, 1993, 33, 2, p. 119-124.
28. Costemagna, L., Barbarini, M., Viarengo, GL., et al. A case of hemolytic disease of the newborn due to anti-Kp<sup>a</sup>, *Immunohematol.* 1997, 13, p. 61-62.
29. Crowther, C., Middleton, P. Anti-D administration after childbirth for preventing Rhesus alloimmunisation. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2010.
30. Čermáková, Z., Kořístka, M., Malušková, A. *Imunohematologie*, Ostravská Univerzita v Ostravě, Ostrava 2008.
31. Dacus, JV., Spinnato, JA. Severe erythroblastosis fetalis secondary to anti-Kp<sup>b</sup> sensitization, *Am J Obstet Gynecol.* 1984, 150, p. 888-889.
32. Daniels, G. *Human Blood Groups*, Oxford: Blackwell Science, 1995.
33. Daniels, G. *Human Blood Groups*, 2nd.ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2002.
34. Daniels, G., Bromilow, I., *Essential Guide to Blood Groups*. 1th edition, Blackwell Publishing, 2007; ISBN 978-1-4051-5349-2.
35. Daniels, G., Green, C. Expression of red cell surface antigens during erythropoiesis, *Vox Sang.*, 2000, 78 (Suppl.2), p. 149-153.
36. Daniels, G., Hadley, A., Green, C. Fetal anemia due to anti-K may result from immune destruction of early erythroid progenitors, *Transfus Med*, 1999, 9 (suppl.1), p. 16 (abstract).
37. Davie, MJ., Smith, DS., White, UM., Dyball, D. An example of anti-s causing mild haemolytic disease of the newborn. *J Clin Pathol*, 1972, 25, 9, p. 772-773.
38. Dean, L. *Blood Groups and Red Cell Antigens: National Center for Biotechnology Information (US)*, 2005 NCBI.
39. de Jonge, N., Martens, J.E., Milani, A.L., et al. Haemolytic disease of the newborn due to anti-K antibodies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 1996, 67, p. 69–72.
40. De Silva, M. *New guidelines for pre and perinatal immunohaematology*, ISBT, 2003, Istanbul, p. 109-111.
41. de Vrijer, B., Harthoorn-Lasthuizen, E. J., Oosterbaan, H.P. The incidence of irregular antibodies in pregnancy: a prospective study in the region of the 's-Hertogenbosch. *Ned Tijdschr Geneesk*, 1999, 143, 50, p. 2523-2527.

42. De Young-Owens, A., Kennedy, M., Rose, R. L., et al. Anti-M isoimmunization: management and outcome at the Ohio State University from 1969 to 1995. *Obstet Gynecol*, 1997, 90, 6, p. 962-966.
43. Donato, E., Guinot, M., Vilar, C., et al. rHuEPO in the management of pregnancy complicated by anti-Di<sup>b</sup>. *Transfusion* 2003, 43, p. 681-682.
44. Drabik-Clary, K., Reddy, VV., Benjamin, WH., Boctor, FN. Severe hemolytic disease of the newborn in a group B African-American infant delivered by a group O mother, *Ann Clin Lab Sci*, 2006, 36, p.205-207.
45. Duguid, J., Bromilow I. Haemolytic disease of the newborn due to anti-k. *Vox Sang* 1990, 58, 1, p. 69.
46. Duguid, J., Bromilow I., Entwistle, G., Wilkinson, R. Haemolytic disease of the newborn due to anti-M. *Vox Sang*, 1995, 68, 3, p. 195-196.
47. Dušková, D., Kubánková, H., Masopust, J., Pejchalová, A., Písačka, M. Imunohematologická vyšetření v těhotenství a po porodu. Doporučení společnosti pro transfuzní lékařství ČLS JEP, č. STL2010\_06 ze dne 1. 3. 2010 verze 3 (2010\_06), Souhrn doporučení.
48. Eckstein, R. Imunohematologie a Transfuzní lékařství, 1. vydání, 1994.
49. Feldman, R., Luhby, AL., Gromisch, DS. Erythroblastosis fetalis due to anti-S antibody, *Pediatr* 1973, 82, 1, p. 88-91.
50. Fernandez-Jimenez, MC., Jimenez-Marco, MT., Hernandez, D., et al. Treatment with plasmapheresis and intravenous immunoglobulin in pregnancies complicated with anti PP<sub>1</sub>Pk or anti-K immunization: a report of two patients, *Vox Sang*, 2001, 80, p. 117-120.
51. Field, T. E., Wilson, T. E., Dawes, B. J., Giles, C. M. Haemolytic disease of the newborn due to anti-Mt a. *Vox Sang*, 1972, 22, p. 432-437.
52. Filbey, D., Hanson, U., Wesström, G. The prevalence of red cell antibodies in pregnancy correlated to the outcome of the newborn: a 12 year study in central Sweden. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 1995, 74, 9, p. 687-692.
53. Finning, K., Martin, P., Summers, J., et al. Effect of high throughput RHD typing of fetal DNA in maternal plasma on use of anti-RhD immunoglobulin in RhD ne-gative pregnant woman: prospective feasibility study. *B M J*, 2008, 336, p. 816-818.

54. Finning, K., Martin, P., Summers, J., et al. Fetal genotyping for the K (Kell) and RhC, c, and E blood groups on cell-free fetal DNA in maternal plasma. *Transfusion*, 2007, 47, p. 2126-2133.
55. Finning, K., Martin, P., Daniels, G. Aclinical service in the UK to predict fetal Rh (Rhesus) D blood group using free fetal DNA in maternal plasma. *Ann NY Acad Sci*, 2004, 1022, p.119-123.
56. Flegel, W., Wagner, FF., Muller, TH., Gassner, C. Rh phenotype prediction by DNA typik and its application to practice, *Transfus Med*, 1998, 8, p. 281-302.
57. Furukawa, K., Nakajima, T., Kogure, T., et al. Example of a woman with multiple intrauterine deaths due to anti-M who delivered a live child after plasmaferesis, *Exp Clin Immunogenet*, 1993, 10, 3, p. 161-167.
58. Gautier, E., Benachi, A., Giovangrandi, Y., et al. Fetal RhD genotyping by maternal serum analysis: A two-year experience. *Am J Obstet Gynecol*, 2005, 192, p. 666-669.
59. Geifman-Holtzman, O., Wojtowycz, M., Kosmas, E., Artal, R. Female alloimmunization with antibodies known to cause hemolytic disease, *Obstet Gynecol* 1997, 89, 2, p. 272-275.
60. Giblett, E., Chase, J., Crealock, FW. Hemolytic disease of the newborn resulting from anti-s antibody: report of a fatal case resulting from the fourth example of anti-s antibody, *Am J Clin Pathol*, 1958, 29, 3, p. 254-256.
61. Goldstone, AH., Verry, BA., Cooper, M. Transplacental passage of anti-s antibody without haemolysis. *Postgrad Med J* 1979, 55, 648, p. 743-744.
62. Gooch, A., Parker, J., Wray, J., Qureshi, H. Guideline for blood grouping and antipody testing in pregnancy. British Committee for Standards in Haematology, 2006, [www.Bcshguidelines.com](http://www.Bcshguidelines.com).
63. Goodrick, M., Hadley, A., Poole, G. Haemolytic disease of the fetus and newborn due tu anti-Fy<sup>a</sup> and the potential clinical value of Duffy genotyping in pregnancies at risk, *Transfus Med* 1997, 7, p. 301-304.
64. Gordon, MC., Kennedy, MS., O'Shaughnessy, RW., Waheed, A. Severe hemolytic disease of the newborn due to anti-Js<sup>b</sup>, *Vox Sang*, 1995, 69, p. 140-141.
65. Griffith, T. K. The irregular antibodies - a continuing problem. *Am J Obstet Gynecol*, 1980, 15, 137, 2, p. 174-177.

66. Gunduz, E., Meltem- Akay, O., Uskudar-Teke, H, Gulbas, Z. Incidence of red-cell alloimmunization due to non-anti-D antibodies during pregnancy. An experience from Turkey, *Transfusion and Apheresis Science*, 2012, 43, p. 261-263.
67. Hackney, DN., Knudtson, EJ., Rossi, KQ., et al. Management of pregnancies complicated by anti-c isoimmunization. *Obstet Gynecol*, 2004, 103, 1, p. 24-30.
68. Hadley, AG., Poole, GD., Poole, J., Anderson, NA., Robson, M. Haemolytic disease of the newborn due to anti-G. *Vox Sang*, 1996, 71, p. 108-112.
69. Hadley, A., Soothill, P. Alloimmune disorders of pregnancy: anaemia, trombocytopenia and neutropenia in the fetus and newborn. Cambridge University Press, 2008.
70. Hall, AR., Mason, RP., Mallaband, A. Survey of significant antibodies found in enzyme screen positive but antiglobulin test negative antenatal referrals. *Transfus Med*, 1997, 7 (Suppl.1), p. 23.
71. Hessner, M.J., Pircon, R.A., Johnson, S.T., Luhm, R.A. Prenatal genotyping of Jk(a) and Jk(b) of the human Kidd blood group system by allele-specific polymerase chain reaction. *Prenat Diagn*, 1998, 18, 12, p. 1225-1231.
72. Hessner, M.J., Pircon, R.A., Johnson, S.T., Luhm, R.A. Prenatal genotyping of the Duffy blood group system by allelespecific polymerase chain reaction. *Prenat Diagn*, 1999, 19, 1, p. 41-45.
73. Hromadnikova, I., Vesela, K., Benesova, B., et al. Noninvasive fetal RHD and RHCE genotyping from maternal plasma in alloimmunized pregnancies. *Prenat Diagn*, 2005, p. 125-128.
74. Huber, AR., Leonard, GT., Diggers, RW., Learn, SB., Gilstad, CW. Case report: moderate hemolytic disease of the newborn due to anti-G, *Immunohematology* 2006, 22, p. 166-170.
75. Hundrič-Haspl, Z., Jurakovič-Loncar, N., Grgicevič, D. Evaluation of the enzyme test for detection of clinically significant red blood cell antibodies during pregnancy, *Acta Med. Croatica* , 1999, 53, p. 125-128.
76. Chandrasekar, A., Morris, K. G., Tbmán, T. R. J., et al. The clinical outcome of non-RhD antibody affected pregnancies in Northern Ireland. *Ulster Med J*, 2001, 70, 2, p. 89-94.



77. Chen, CC., Broadberry, RE., Chang, FC., et al. Hemolytic disease of the newborn caused by maternal anti-Dib: a case report in Taiwan. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei)*, 1993, 52, p. 262–264.
78. Che'rif-Zahar, B., Matte' i, MG., Le Van Kim, C., et al. Localization of the human Rh blood group gene structure to chromosome region 1p34.3-1p36.1 by in situ hybridization. *Hum Genet*, 1991, 86, p. 398–400.
79. Chilcott, J., Lloyd, J. M., Wight, J. et al. A review of the clinical effectiveness and cost effectiveness of routine anti-D prophylaxies for pregnant women who are Rhesus (RhD) negative, 2002, National Institute of Clinical Excellence, London.
80. Chitkara, U., Wilkins, I., Lynch, L., et al. The role of sonography in assessing severity of fetal anemia in Rh- and Kell-isoimmunized pregnancies. *Obstet Gynecol*, 1988, 71, p. 393-398.
81. INTERNATIONAL FORUM: Engelfriet, C. P., Reesink, H. W., Judd, W. J., Ulander, V. M., Kuosmanen, M., Koskinen, S., Rouger, P., Morelati, F., Tantaló, V., Fujii, T., de Haas, M., van der Schoot, C. E., Overbeeke, M., Koelewijn, J., Bonsel, G., Vrijkotte, T., Zupańska, B., Martín-Vega, C., Parra Lopez, R., de Silva, M., Contreras, M., Panzer, S., Ulm, B., Mayr, WR. Current status of immunoprophylaxis with anti-D immunoglobulin. *Vox Sang*, 2003, 85 (4), p. 328-337.
82. Joy, SD., Rossi, KQ., Krugh, D., O'Shaughnessy, RW. Management of pregnancies complicated by anti-E alloimmunization. *Obstet Gynecol*, 2005, 105, 1, p. 24-28.
83. Judd, W., Luban, N., Ness, P., et al. Prenatal and perinatal immunohematology: recommendations for serologic management of the fetus, newborn infant, and obstetric patient. *Transfusion*, 1990, 30, p. 175-183.
84. Judd, WJ. Practice guidelines for prenatal and perinatal immunohematology, revisited, *Transfusion*, 2001, 41 p. 1445-1452.
85. Kanra, T., Yüce, K., Özcebe, IU. Hydrops fetalis and intrauterine deaths due to anti-M, *Acta Obstet Gynecol Scand* 1996, 775, 4, p. 415-417.
86. Kim, WD., Lee, YH. A fatal case of severe haemolytic disease of newborn associated with anti- Jk(b), *J Korean Med Sci*, 2006, 21,1, p. 151-154.
87. Klein, H., Anstee, D. Haemolytic disease of the fetus and newborn. In *Mollison's blood transfusion in clinical medicine.*, 11<sup>th</sup> edition, Blackwell Publishing, 2005, p. 496-545.

88. Koelewijn, J. M., Vrijkotte, T. G., de Haas, M., et al. Risk factors for the presence of non-rhesus D red blood cell antibodies in pregnancy. *BJOG*, 2009, 116, 5, p. 655-664.
89. Kozlowski, C. L., Lee, D., Shwe, K. H., Love, E. M. Quantification of anti-c in haemolytic disease of the newborn. *Transfus Med*, 1995, 5, 1, p. 37-42.
90. Kulich, V., Kohout, M. Hemolytic disease of a newborn caused by anti-k antibody, *Ces. Pediatr* 1967, 22, 9, p. 823-826.
91. Kumar, S. Universal RHD genotyping in fetuses. *BMJ*, 2008, 336, p. 783–784.
92. Kusnierz-Alejska, G., Bochenek, S. Haemolytic disease of the newborn due to anti-Di<sup>a</sup> and incidence of the Di<sup>a</sup> antigen in Poland *Vox San*, 1992, 62, p. 124-126.
93. Leduc, L., Moise, K. J. Jr., Carpenter, R. J. Jr., Cano, L. E. Fetoplacental blood volume estimation in pregnancies with Rh alloimmunization. *Fetal Diagn Ther*, 1990, 5, p. 138-146.
94. Lee, D., Rawlinson, V. I. Multicentre trial of antepartum low dose anti-D immunoglobulin. *Transfusion Med*, 1995, 5, p. 15-19.
95. Lenkiewicz, B., Zupanska, B. The first example of anti-Diego(b) found in a Polish woman with the Di(a+b-) phenotype and haemolytic disease of the newborn not requiring treatment. *Transfus Med*, 2003, 13, p. 161-163.
96. Levene, C., Rudolphson, Y., Schechter, Y. A second case of hemolytic disease of the newborn due to anti-Js<sup>a</sup>, *Transfusion* 1980, 20, p. 714-715.
97. Levine, P., Backer, M., Wigod, M., Ponder, R. A new human hereditary blood property (Cellano) present in 99,8% of all bloods, *Science* 1949, 6, 109, 2836, p. 464-466.
98. Levine, P., Ferraro, LR., Koch, E. Hemolytic disease of the newborn due to anti-S: a case report with a review of 12 anti-S sera cited in the literature, *Blood* 1952, 7, 10, p. 1030-1037
99. Liley, A. W. Liquor amni analysis in the management of the pregnancy complicated by resus sensitization. *Am J Obstet Gynecol*, 1961, 82, p. 1359-1370.
100. Lloyd-Evans, P., Kumpel, B. M., Bromelow, I., Austin, E., Taylor, E. Use of a directly conjugated monoclonal anti-D (BRAD-3) for quantification of fetomaternal haemorrhage by flow cytometry. *Transfusion*, 1996, 36, p. 432-437.
101. Lo, Y. M., Lau, T. K., Chan, L. Y., et al. Quantitative analysis of the bidirectional fetomaternal transfer of nucleated cells and plasma DNA. *Clin Chem*, 2000, 46, p. 1301-9.

102. Lubenko, A., Williams, M., Johnson, A., Pluck, J., Armstrong, D., MacLennan, S. Monitoring the clearance of fetal RhD positive red cells in FMH following RhD immunoglobulin administration. *Transfusion Med*, 1999, p. 331-335.
103. Lubušský, M., Procházka, M., Šantavý, J., Míčková, I., Kantor, L. Aktuální management těhotenství s rizikem rozvoje anémie plodu. *Čes. Gynek.*, 2006, 71, s. 272-280
104. Lubušský, M., Procházka, M., Krejčová, L., Větr, M., Šantavý, J., Kudela, M. Prevence RhD aloimunizace u těhotných žen v těhotenství a po porodu RhD pozitivního dítěte. *Čes. Gynek.*, 2006, 71, s. 173-179.
105. Lubušský, M. Minimálně invazivní management těhotenství s rizikem rozvoje anémie plodu. Olomouc, 2007. 102 s. Habilitační práce na LFUP v Olomouci.
106. Lubušský, M. Prevence Rh(D) aloimunizace u Rh(D) negativních žen. *Prakt. Gyn.*, 2008, 12, s. 100-103.
107. Lubusky, M., Dhaifalah, I., Holuskova, I., et al. The incidence of erythrocyte alloimmunization in pregnant women. *Int J Gynaecol Obstet* 2009, 107, S2, p. 439.
108. Lubušský, M. Prevence RhD aloimunizace. Evidence Based Medicine a přehled doporučených postupů. *Postgraduální medicína*, 2010, 12, s. 194-198.
109. Lubusky, M., Holuskova, I., Prochazka, M., Studnickova, M., Vomackova, K. The incidence of erythrocyte alloimmunization in pregnant women. *J Matern Fetal Neonatal. Med*, 2010, 23 (Suppl.1), p. 593.
110. Lubušský, M., Procházka, M., Šimetka, O., Holusková, I. Doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace u RhD negativních žen. *Čes. Gynek.*, 2010, 75, s. 323 – 324.
111. Lubušský, M., Procházka, M. Erytrocytární aloimunizace těhotných žen: Hemolytická nemoc plodu a novorozence, *Postgradual Med.*, 2012, 14, 3, p. 242-246.
112. Lubušský, M., Procházka, M., Šimetka, O., Holusková, I. Doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace u RhD negativních žen. *Postgraduální medicína*, 2012, 14, 3, s. 246-247
113. Maass, B., Würfel, B., Fusch, C. Recurrent fetomaternal transfusion in two consecutive pregnancies. *Prenat Diagn*, 2001, 21, p. 791-793.
114. Macpherson, CR., Zartman, ER. Anti-M antibody as a cause of intrauterine death: a follow up. *Am J Clin Pathol*, 1965, 43, p. 544-547.
115. Manning, FA. *Fetal medicine: principles and practice*. Appleton & Lange, 1995.

116. Marshall, CS., Dwyre, D., Eckert, R., Russell, L. Severe hemolytic reaction due to anti-Jk3. *Arch Pathol Lab Med*, 1999, 123, p. 949-951.
117. Martinez, S., Luna, I., Arriaga, F., et al. Foetus fatal haemolytic disease by anti- JK<sup>b</sup>, a case report. *Vox Sang*, 2007, 93 (Suppl.1), p. 8.
118. Masopust, J. Hemolytická nemoc novorozenců-význam kritického titru antierytrocytárních protilátek, *Neonat. listy*, 1998, s 18-21.
119. Matsumoto, H., Tamaki, Y., Sato, S., Shibata, K. A case of hemolytic disease of the newborn caused by anti-M: serological study of maternal blood. *Acta Obstet Gynaecol Jpn*, 1981, 33, 4, p. 525-528.
120. Mayne, K., Bowell, P., Woodward, T., Sibley, C., Lomas, C., Tippet, P. Rh immunization by the partial D antigen of category D<sup>Va</sup>. *B J Haematol*, 1989, 76, p. 537-539.
121. Mayne, K., Bowell, P., Green, S., Entwistle, C. The significance of anti-S sensitization in pregnancy. *Clin Lab Haematol*, 1990, 12, 1, p. 105-107.
122. McKenna, DS., Nagaraja, HN., O'Shaughnessy, RW. Management of pregnancies complicated by anti-Kell isoimmunization. *Obstet Gynecol*, 1999, 93, p. 667-673.
123. Moise, K. Non anti-D antibodies in red cell alloimmunisation. *Europ J Obstet Gynecol and Reprod Biol*, 2000, 92, p. 75-81.
124. Moise, K. Red Blood Cell Alloimmunization in Pregnancy, *Seminars in Hematology*, 2005, p. 169-178.
125. Moise, K. Fetal anemia due to non-Rhesus-D red-cell alloimmunization. *Semin Fetal Neonatal Med*, 2008, 13, 4, p. 207-214.
126. Moise, K. J. Jr. Prevention of Rh (D) alloimmunization. *The UpToDate Database of Systematic Reviews 2008 (updated April 2008)*.
127. Moise, K. Kell aloimunizace matky může vést k rozvoji anémie plodu. *Gynekologie po promoci*, leden/únor 2009, s. 24-31.
128. Moise, K. J. Jr. Pathogenesis and prenatal diagnosis of Rhesus (Rh) alloimmunization. *The UpToDate Database of Systematic Reviews 2009 (updated 9/2009)*.
129. Moise, K. J. Jr. Prevention of Rh(D) alloimmunization. *The UpToDate Database of Systematic Reviews 2011 (updated 8/2011)*.
130. Moise, K. J. Jr. Management of Rhesus (Rh) alloimmunization in pregnancy. *The UpToDate Database of Systematic Reviews 2011 (updated 11/2011)*.

131. Mollison, PL., Engelfriet, CP., Contreras, M. Blood transfusion in clinical medicine. 10th edition, Oxford: Blackwell Science, 1997.
132. Monchamont, P., Juron-Dupraz, F., Doillon, M., et al. A case of hemolytic disease of the newborn infant due to anti-K (Cellano). *Acta Haematol*, 1991, 85, 1, p. 45-46.
133. Moran, P., Robson, S., Reid, M. Anti-E in pregnancy. *Br J Obstet Gynecol*, 2000, 107, p. 1436-1438.
134. Mourant, AE., Kopec, AC., Domaniewska, K. The distribution of human blood groups and other polymorphisms. London: Oxford University Press, 1976.
135. Mrázek, M. Nepravidelnosti plodového vejce. Rh izoimunizace adalší hemolytická onemocnění plodu způsobená inkompatibilitou krve matky aplodu. In Zwinger, A. et al. *Porodnictví*. Praha: Galén, 2004, s. 257-264.
136. National Blood Authority. Guidelines on profylactic use of Rh D immunoglobulin (anti-D) in obstetrics, 2000, N. H. M. R. C., Canberra, A. C. T.
137. National Institute for Clinical Excellence. Guidance on the use of routine antenatal anti-D prophylaxis for RhD-negative women, 2002, London.
138. Natukunda, B., Mugenyi, G., Brand, A., Schonewille, H. Maternal red blood cell alloimmunization in South Western Uganda. *Transfus Med*, 2011 British Blood Transfusion Society.
139. Novaretti, MC., Peres Navarro, S., Leao Bonifacio, S., Dorhliac-Llacer, PE., de Alencar Fischer Chamone, D. Comparison of gel test and tube test technique for isoagglutininstitution. *Vox Sang*, 2007, 93 (Suppl.1), p. 188-189.
140. Oepkes, D., Seaward, PG., Vandenbussche, FT., et al. Doppler ultrasonography versus amniocentesis to predict fetal anemia. *N Engl J Med*, 2006, 13, 335, 2, p. 156-164.
141. Penka, M., Tesařová, E. *Hematologie a transfuzní lékařství II*. 1.vyd. Praha: Grada Publishing, 2012.
142. Pepperell, R.J., Barrie, J.U., Fliegner, J.R. Significance of redcell irregular antibodies in the obstetric patient. *Med J Aust*, 1977, 1, 2, 14, p. 453-456.
143. Pětroš, M., Ľubušký, M., Šimetka, O., Procházka, M. Aloimunizace těhotných žen non-RhD erytrocytárními antigeny: přehledový článek. *Čes. Gynek.*, 2010, 75, s. 325-333.
144. Polesky, H. F. Blood group antibodies in prenatal sera. *Minn Med*, 1967, 50, p. 601-603.

145. Pontůch, A., Hrubíško, M., Michaličková, J. Hemolytická choroba novorozencov. 1. vyd. Martin: Osveta, 1970.
146. Queenan, JT., Smith, BD., Haber, JM. et al. Irregular antibodies in the obstetric patient. *Obstetric Gynecol*, 1969, 34, 6, p. 767-771.
147. Race, RR., Sanger, R. *Blood Groups in Man*, 6th edn. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1975
148. Raman, L., Armstrong, B., Smart, E. Principles of laborator techniques. Journal compilation, Blackwell Publishing 2008, ISBT Science series (2008), 3, p. 33-60.
149. RANZCOG - Royal Australian and New Zealand College of Obstetricians and Gynaecologists. Guidelines for the use of Rh D Immunoglobulin (Anti-D) in obstetrics in Australia 2007.
150. RCOG - Royal College of Obstetrics and Gynaecology. United Kingdom. Green Top Guidelines (Green-top 22). Anti-D Immunoglobulin for Rh Prophylaxis, 2002.
151. RCOG - Royal College of Obstetrics and Gynaecology. United Kingdom. Use of Anti-D immunoglobulin for Rh prophylaxis, 2000.
152. RCOG - Royal College of Obstetrics and Gynaecology. United Kingdom. NICE - National Institute for Clinical Excellence's Technology Appraisal Guidance No 41. Guidance on the use of routine antenatal anti-D prophylaxis for RhD-negative women, May 2002.
153. Reid, ME., Lomas-Francis, C. *The Blood Group Antigen Facts Book*. Second ed. New York: Elsevier Academic Press 2004.
154. Rigal, D., Juron-Dupraz, F., Biggio, B., Jouvenceaux, A. Fetal death and benign hemolytic disease of the newborn from anti-Cellano alloimmunization: 2 new case reports. *Rev Fr Transfus Immunohematol*, 1982, 25, 1, p. 101-104.
155. Rimon, E., Peltz, R., Gamzu, R., et al. Management of Kell isoimmunization-evaluation of a Doppler-guided approach. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2006, 28, 6, p. 814-820.
156. Rote, N. S. Pathophysiology of Rh isoimmunization. *Clin Obstet Gynecol*, 1982, 25, p. 243-253.
157. Sakuma, K., Suzuki, H., Ohto, H., et al. First case of hemolytic disease of the newborn due to anti-Ul<sup>a</sup> antibodies. *Vox Sang*, 1994, 66, p. 293-294.
158. Smart, E., Armstrong B. Blood group systems. Journal compilation, Blackwell Publishing 2008, ISBT Science Series (2008) 3, p. 68-92.

159. Smoleniek, J., Anderson, N., Poole, GD. Hydrops fetalis caused by anti-Kpa, an antibody not usually detected in routine screening (Abstract). *Tasnfus Med*, 1994; (Suppl.1):48
160. Southcott, J., Tanner, J., Anstee, D. The expression of human blood group antigens during erythropoiesis in a cell culture system. *Blood* 1999, 93, p. 4425-4435.
161. Spong, C.Y., Porter, A.E., Queenan, J.T. Management of isoimmunization in the presence of multiple maternal antibodies. *Am J Obstet Gynecol*, 2001, 185, 2, p. 481-484.
162. Stanworth, S., Fleetwood, P., de Silva, M. Severe hemolytic disease of the newborn due to anti-Js<sup>b</sup>. *Vox Sang*, 2001, 81, 134-135.
163. Stone, B., Marsh, WL. Haemolytic disease of the newborn caused by anti-M. *Br J Haematol*, 1959, 5, p. 344-347.
164. Studničková, M., Ľubušký, M., Ordeltová, M., Procházka, M. Možnosti stanovení fetomaternální hemoragie. *Čes. Gynek.*, 2010, 75, č. 5, s. 443-446.
165. Szczepura, A., Bonsel, G., Krauth, CH., et al. Is fetal RHD typing in all RhD negative women cost effective? *BMJ*, 2008, 336, p. 906.
166. Telischi, M., Behzad, O., Issitt, PD., Pavone, BG. Hemolytic disease of the newborn due to anti-N. *Vox Sang*, 1976, 31, 2, p. 109-116.
167. Ting, JY., Ma, ES., Wong, KY. A case of severe haemolytic disease of the newborn due to anti-Di(a) antibody. *Hong Kong Med J*, 2004, 10 p. 247-249.
168. Tippet, P., Lomas-Francis, C., Wallace, M. The Rh antigen D: partial D antigens and associated low incidence antigens. *Vox Sang*, 1996, 70, p. 123-131.
169. Trevett, TN., Moise, KJ. Twin pregnancy complicated by severe hemolytic disease of the fetus and newborn due to anti-g and anti-C. *Obstet Gynecol*, 2005, 106, p. 1178-1180.
170. Turgeon, ML. *Fundamentals of Immunohematology : Theory and technique*, Lea and Febiger. Philadelphia, 1989, p. 322-343.
171. Uchikawa, M., Shibata, Y., Tohyama, H., et al. A case of hemolytic disease of the newborn due to anti-Di<sup>b</sup> antibodies. *Vox Sang*, 1982, 42, p. 91-92.
172. Unzeitig, V., Měchurová, A., Procházka, M., Čepický, P. Zásady dispenzární péče ve fyziologickém těhotenství. *Čes. gynek.*, 2005, 70, 6, s. 460-461.

173. Unzeitig, V., Měchurová, A., Ľubušký, M. Zásady dispenzární péče ve fyziologickém těhotenství. Čes. Gynek., 2012, 77, 3, s. 265-266
174. van der Schoot, C. E., Tax, G. H., Rijnders, R. J., et al. Prenatal typing of Rh and Kell blood group system antigens: the edge of a watershed. Transfus Med Rev, 2003, 17, p.31-44.
175. van Dijk, B. A., Hirasings, R. A., Overbeeke, M. A. Hemolytic disease of the newborn and irregular blood group antibodies in the Netherlands: prevalence and morbidity. Ned Tijdschr Geneesk, 1999, 10, 143, 28, p. 1465-1469.
176. Van Dongen, H., Klumper, FJ., Sikkel, E., et al. Non-invasive tests to predict fetal anemia in Kell-alloimmunized pregnancies. Ultrasound Obstet Gynecol, 2005, 25, 4, p. 341-345.
177. Van Kamp, IL., Klumper, FJ., Bakkum, RS., et al. The severity of immune fetal hydrops is predictive of fetal outcome after intrauterine treatment. Am J Obstet Gynecol, 2001, 185, 3, p. 668-673.
178. Van Wamelen, DJ., Klumper, FJ., de Haas, M., et al. Obstetric history and antibody titer in estimating severity of Kell alloimmunization in pregnancy. Obstet. Gynecol. 2007, 109, 5, p. 1093-1098.
179. Vaughan, J. I., Warwick, R., Letsky, E., et al. Erythropoietic Suppression in Fetal Anemia Because of Kell Alloimmunization. Am J Obstet Gynecol, 1994, 171, 1, p. 247-252.
180. Vaughan, J. I., Manning, M., Warwick, R. M., et al. Inhibition of erythroid progenitor cells by anti-Kell antibodies in fetal alloimmune anemia. N Engl J Med, 1998, 338, p. 798-803.
181. Ventruba, P. Patologické těhotenství. Sérologický konflikt. Rh - izoimunizace. In Roztočil, A. et al. Porodnictví. Brno: MIKADA, 2001, s. 190-191.
182. Vescio, LA., Farina, D., Rogido, M., Sola, A. Hemolytic disease of the newborn caused by anti-Fy<sup>b</sup>. Transfusion 1987, 27, 4, p. 366.
183. Wagner, T., Resch, B., Reiterer, F. et al. Pancytopenia due to suppressed hematopoiesis in a case of fatal hemolytic disease of the newborn associated with anti-K supported by molecular K1 typing. J Pediatr Hematol, Oncol. 2004, 26, p. 13-15.



184. Weinstein, L., Taylor, ES. Hemolytic disease of the neonate secondary to anti-Fy<sup>a</sup>. Am J Obstet Gynecol, 1975, 1, 121, 5, p. 643-645.
185. Wenk, RE., Goldstein, P., Felix, JK. Alloimmunization by hr'(c) hemolytic disease of newborns and perinatal management. Obstet Gynecol, 1986, 67, 5, p. 623-626.
186. Whittle, M. Rhesus haemolytic disease. Archives of Disease in Childhood, 1992, 67, p. 65-68.
187. Yazdanbakhsh, K., Rios, M., Storry, JR., et al. Molecular mechanisms that lead to reduced expression of duffy antigens. Transfusion, 2000, 40, 3, p. 310–320.
188. Yung, CH., Lin, JS., Hu, HY., et al. Hemolytic disease of the newborn caused by maternal anti-Di(a): a case report. Zhonghua Min Guo Wei Sheng Wu Ji Mian Yi Xue Za Zhi. 1995, 28, p. 146–150.
189. Zizka, Z., Fait, T., Belosovicova, H., et al. ABO fetomaternal compatibility poses a risk for massive fetomaternal transplacental hemorrhage. Acta Obstet Gynecol Scand, 2008, 87, p.1011-1014.
190. Žižka, Z., Hájek, Z. a kol. Rizikové a patologické těhotenství. Praha: Grada Publishing, 2004, s. 83-94.

## 12 PUBLIKACE A PŘEDNÁŠKY

### 12.1 Publikace a přednášky související s disertační prací

Původní vědecké publikace in extenso v daném oboru uveřejněné v časopisech s IF

1. Bohmova J., Vodicka R., Lubusky M., **Holuskova I.**, Studnickova M., Kratochvilova R., Krejcirikova M., Janikova M., Durdova V., Kratochvilova T., Filipova H., Dusek L., Dhaifalah I., Vomackova K., Kacerovsky M., Vrtel R. Clinical potential of effective non-invasive exclusion of KEL1 positive fetuses in KEL1 negative pregnant women. Fetal Diagn. Ther. 2015 (2014 IF-2,939)

Původní vědecké publikace in extenso uveřejněné v ostatních recenzovaných vědeckých časopisech

1. **Holusková I.**, Lubušský M., Studničková M., Procházka M. Incidence erytrocytární aloimunizace u těhotných žen v olomouckém regionu. Čes. Gynek., 2013, 78 (1), s.56-61 ISSN 1210-7832
2. Lubusky, M., Dhaifalah, I., **Holuskova, I.**, et al. The incidence of erythrocyte alloimmunization in pregnant women. Int J Gynaecol Obstet 2009, 107, S2, p. 439.
3. Lubusky, M., **Holuskova, I.**, Prochazka, M., Studnickova, M., Vomackova, K. The incidence of erythrocyte alloimmunization in pregnant women. J Matern Fetal Neonatal. Med, 2010, 23 (Suppl.1), p. 593.
4. Lubusky, M., **Holuskova, I.**, Prochazka, M., Studnickova, M., Vomackova, K. The incidence of erythrocyte alloimmunization in pregnant women. J Matern Fetal Neonatal. Med, 2012, 23 (Suppl.1), p. 486.
5. Lubusky, M., **Holuskova, I.**, Prochazka, M., Studnickova, M., Vomackova, K. The incidence of erythrocyte alloimmunization in pregnant women. J Matern Fetal Neonatal. Med, 2013, 23 (Suppl.1), p. 596
6. Lubusky M., Prochazka M., Simetka O., **Holuskova I.** Guideline for prevention of RhD alloimmunization in RhD negative women. J Matern Fetal Neonatal. Med, 2013, 23 (Suppl.1), p. 599

7. Böhmová J., Vodička R., Lubušský M., Studničková M., **Holusková I.**, Vrtěl R., Kratochvílová R., Frydrychová M., Krejčíříková E., Filipová H. Stanovení RHD genotypu plodu z plazmy periferní krve těhotné ženy a posouzení citlivosti nových diagnostických postupů pro zavedení do klinické praxe. Čes. Gynek., 2013, 78 (1), s. 32-40 ISSN 1210-7832
8. Lubusky M., Studnickova M., **Holuskova I.**, Durdova V., Dolezalova T., Prochazka M. Spontaneous antepartal RhD alloimmunization in RhD negative pregnant women. J Matern Fetal Neonatal. Med, 2014, 23 (Suppl.1), p. 582
9. Studničková M., **Holusková I.**, Durdová V., Marková I., Lubušský M. Spontánní antepartální RhD aloimunizace Čes. Gynek., 2015, 80 (6), s. 401-404

### Přehledné/souborné vědecké práce uveřejněné v ostatních recenzovaných vědeckých časopisech

1. **Holusková I.**, Lubušský M., Studničková M., Procházka M. Erytrocytární aloimunizace těhotných žen, klinický význam a laboratorní diagnostika. Čes. Gynek., 2013, 78 (1), s.89-99 ISSN 1210-7832
2. Lubušský, M., Procházka, M., Šimetka, O., **Holusková, I.** Doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace u RhD negativních žen. Čes. Gynek., 2010, 75, s. 323 – 324.
3. Lubušský, M., Procházka, M., Šimetka, O., **Holusková, I.** Doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace u RhD negativních žen. Postraguální medicína, 2012, 14 (3) s. 288-289
4. Lubušský, M., Procházka, M., Šimetka, O., **Holusková, I.** Doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace u RhD negativních žen. Čes. Gynek., 2013, 78 (2), s. 132 – 133.

### Publikovaná abstrakta

1. Lubusky M., **Holuskova I.**, Prochazka M., Vomackova K. The incidence of erythrocyte alloimmunization in pregnant women. International Journal of Gynecology & Obstetrics 107S2, S439

2. Ľubušký M., Procházka M., **Holusková I.** Erythrocytární aloimunizace matky. Prakt. Gyn., 2007, 11(2), s. 32, ISSN 1211-6645, MK ČR 7630, ISSN pro online přístup 1801-8750
3. Ľubušký M., **Holusková I.**, Procházka M., Vomáčková K. Incidence erythrocytární aloimunizace u těhotných žen. Celostátní konference ČGPS ČLS JEP a SSG ČR, Brno, 15.-17.5.2009, poster. ABSTRAKT (Sborník abstrakt, s. 29)
4. **Holusková I.**, Sláviková M., Entrová A., Galuszková D. Erythrocytární aloimunizace: studie za rok 2000-2007, XV. Česko-slovenský hematologický a transfuziologický sjezd, Špindlerův Mlýn, poster 6.-9.9.2008
5. **Holusková I.**, Sláviková M., Andříšková A., Galuszková D. Erythrocytární aloimunizace v těhotenství pohledem imunohepatologa, 12. Pracovní dny v transfuzním lékařství, Olomouc 23.-25.9.2009, přednáška ABSTRAKT (Trans. Hemat. dnes, 2009, 15, Supplementum 3, str. 25, ISSN 1213-5763)
6. Ľubušký M., **Holusková I.**, Procházka M., Vomáčková K. Incidence erythrocytární aloimunizace u těhotných žen. Trans. Hemat. dnes, 2009, 15, Supplementum 1, str. 72, ISSN 1213-5763
7. Ľubušký M., **Holusková I.**, Procházka M., Vomáčková K. Incidence erythrocytární aloimunizace u těhotných žen. Trans. Hemat. dnes, 2009, 15, Supplementum 3, s. 53, ISSN 1213-5763
8. Ľubušký M., **Holusková I.**, Procházka M., Vomáčková K. Incidence erythrocytární aloimunizace u těhotných žen. Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 20.11.2009, poster. ABSTRAKT ([www.FMM2010.com](http://www.FMM2010.com))
9. **Holusková I.**, Sláviková M., Ľubušký M., Galuszková D. Výskyt antierythrocytárních protilátek zachycených v rámci prenatálního screeningu na TO FNOL v letech 2000-2009 v jednotlivých testech. XXIII. Olomoucké hematologické dny, Olomouc, 24.-26.6.2010, poster. ABSTRAKT (Trans. Hemat. dnes, 2010, 16, Supplementum 1, str. 91, ISSN 1213-5763)
10. **Holuskova I.**, Lubusky M., Galuszkova D., Slavikova M., Studnickova M., Vomackova K. The incidence of erythrocyte alloimmunization in pregnant women. XXXIst International Congress of the ISBT, Berlin, Germany, 26.6.-1.7.2010, poster. ABSTRACT (Vox Sang., 2010, 99 (Suppl. 1), P-0841, p. 1-516, pISSN: 0042-9007, eISSN: 1423-0410)

11. Lubusky M., **Holuskova I.**, Prochazka M., Studnickova, Vomackova K. The incidence of erythrocyte alloimmunization in pregnant women. J. Matern. Fetal Neonatal Med., 2010, 23, Suppl. 1, p. 593, pISSN: 1476-7058, eISSN: 1476-4954
12. Lubusky M., Prochazka M., Simetka O., **Holuskova I.** Guideline for prevention of RhD alloimmunization in RhD negative women. J. Matern. Fetal Neonatal Med., 2010, 23, Suppl. 1, p. 593, pISSN: 1476-7058, eISSN: 1476-4954
13. Lubusky M., **Holuskova I.**, Prochazka M., Studnickova, Vomackova K. The incidence of erythrocyte alloimmunization in pregnant women. Placenta, 2010, 31 (9), P1.84, ISSN: 0143-4004
14. Ľubušký M., **Holusková I.**, Procházka M., Studničková, Vomáčková K. Incidence erytrocytární aloimunizace u těhotných žen. Čes. Gynek., 2010, 75 (2), s. 155, ISSN: 1210-7832
15. Ľubušký M., Procházka M., Šimetka O., **Holusková I.** Doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace u RhD negativních žen. Čes. Gynek., 2010, 75 (2), s. 154-155, ISSN: 1210-7832
16. Ľubušký M., Procházka M., Šimetka O., **Holusková I.**, Studničková M. Screening nepravidlných antierytrocytárních protilátek u těhotných žen a prevence RhD aloimunizace. Čes. Gynek., 2010, 75 (4), s. 379, ISSN: 1210-7832
17. Ľubušký M., **Holusková I.**, Procházka M., Studničková, Vomáčková K. Incidence erytrocytární aloimunizace u těhotných žen. Čes. Gynek., 2010, 75 (4), s. 398, ISSN: 1210-7832
18. Ľubušký M., Procházka M., Šimetka O., **Holusková I.** Doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace u RhD negativních žen. Čes. Gynek., 2010, 75 (4), s. 397, ISSN: 1210-7832
19. Ľubušký M., **Holusková I.**, Procházka M., Studničková M., Vomáčková K. Incidence erytrocytární aloimunizace u těhotných žen. Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 5.11.2010, přednáška. ABSTRAKT ([www.FMM2010.com](http://www.FMM2010.com))
20. Ľubušký M., Procházka M., Šimetka O., **Holusková I.** Doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace u RhD negativních žen. Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 5.11.2010, přednáška. ABSTRAKT ([www.FMM2010.com](http://www.FMM2010.com))

21. Ľubušký M., **Holusková I.**, Studničková M., Procházka M. Spontánní antepartální aloimunizace. Celostátní konference ČGPS ČLS JEP a SSG ČR, Hradec Králové, 3.-6.6.2011, poster. ABSTRAKT (Sborník abstrakt, s. 27)
22. **Holuskova I.**, Lubusky M., Studnickova M., Prochazka M., Galuszková D. Spontánní antepartální RhD aloimunizace, XXIV. Olomoucké hematologické dny, Olomouc, 22.-25.6.2011, poster ABSTRAKT (Trans. Hemat. dnes, 2011, 17, Supplementum 2, str. 75, ISSN 1213-5763)
23. **Holuskova I.**, Lubusky M., Studnickova M., Prochazka M., Vomackova K. Spontaneous antepartal RhD alloimmunization. 10thWorld Congress in Fetal Medicine, Malta, 26.-30.6.2011, poster.
24. **Holuskova I.**, Lubusky M., Studnickova M., Prochazka M., Galuszková D Spontánní antepartální RhD aloimunizace, 13.pracovní dny v Transfuzním lékařství, Praha, 6.-8.10.2011, poster ABSTRAKT (Trans. Hemat. dnes, 2011, 17, Supplementum 3, str. 69, ISSN 1213-5763)
25. **Holuskova I.**, Lubusky M., Studnickova M., Sláviková M., Vodičková M., Galuszková D Incidence erytrocytární aloimunizace těhotných žen v letech 2000-2010 na TO FNOL, 13.pracovní dny v Transfuzním lékařství, Praha, 6.-8.10.2011, poster ABSTRAKT (Trans. Hemat. dnes, 2011, 17, Supplementum 3, str. 66, ISSN 1213-5763)
26. Lubusky M., **Holuskova I.**, Prochazka M., Studnickova M., Vomackova K. The incidence of erythrocyte alloimmunization in pregnant women. J. Perinat. Med., 2011, 39 (Suppl. 1), p. 168 P427, ISSN 0936-174X
27. **Holusková I.**, Lubusky M., Studničková M., Procházka M. Spontánní antepartální RhD aloimunizace. Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 25.11.2011, poster. ABSTRAKT ([www.FMM2011.com](http://www.FMM2011.com))
28. Ľubušký M., **Holusková I.**, Procházka M., Studničková M., Vomáčková K. Incidence erytrocytární aloimunizace u těhotných žen. Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 25.11.2011, poster. ABSTRAKT ([www.FMM2011.com](http://www.FMM2011.com))
29. Ľubušký M., Procházka M., Šimetka O., **Holusková I.** Doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace u RhD negativních žen. Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 25.11.2011, poster. ABSTRAKT ([www.FMM2011.com](http://www.FMM2011.com))

30. Ľubušký M., **Holusková I.**, Procházka M., Studničková M., Vomáčková K. Incidence erytrocytární aloimunizace u těhotných žen. 29. konference Sekce perinatální medicíny ČGPS ČLS JEP, České Budějovice, 18.-20.4.2012, přednáška. ABSTRAKT (Sborník abstrakt na CD)
31. **Holusková I.**, Lubusky M., Studničková M., Procházka M., Vomáčková K. Spontánní antepartální RhD aloimunizace. 29. konference Sekce perinatální medicíny ČGPS ČLS JEP, České Budějovice, 18.-20.4.2012, poster. ABSTRAKT (Sborník abstrakt na CD)
32. Ľubušký M., **Holusková I.**, Procházka M., Studničková M., Vomáčková K. Incidence erytrocytární aloimunizace u těhotných žen. Celostátní konference ČGPS ČLS JEP a SSG ČR, Brno, 17.-20.5.2012, poster. ABSTRAKT (Sborník abstrakt, s. 29-30)
33. **Holusková I.**, Lubusky M., Studničková M., Procházka M., Vomáčková K. Spontánní antepartální RhD aloimunizace. Celostátní konference ČGPS ČLS JEP a SSG ČR, Brno, 17.-20.5.2012, poster. ABSTRAKT (Sborník abstrakt, s. 30-31)
34. **Holuskova I.**, Lubusky M., Studnickova M., Galuszkova D, Vomackova K. Spontaneous antepartal RhD alloimmunization, 32nd International Congress of the ISBT, Cancun, Mexico, July 7-12,2012, poster, ABSTRACT (Vox Sanguinis, 2012, 103 (Suppl. 1), P-530, p. 1-271, pISSN: 0042-9007, eISSN: 1423-0410)
35. **Holuskova I.**, Lubusky M., Studnickova M., Galuszkova D, Vomackova K. The incidence of erythrocyte alloimmunization in pregnant women, 32nd International Congress of the ISBT, Cancun, Mexico, July 7-12,2012, poster, ABSTRACT (Vox Sanguinis, 2012, 103 (Suppl. 1), P-524, p. 1-271, pISSN: 0042-9007, eISSN: 1423-0410)
36. **Holusková I.**, Ľubušký M., Procházka M., Studničková M., Vomáčková K., Incidence erytrocytární aloimunizace u těhotných žen, Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 9.11.2012, poster. ABSTRAKT ([www.FMMolomouc.cz](http://www.FMMolomouc.cz))
37. **Holusková I.**, Lubusky M., Studničková M., Procházka M., Vomáčková K. Spontánní antepartální RhD aloimunizace. Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 9.11.2012, poster. ABSTRAKT ([www.FMMolomouc.cz](http://www.FMMolomouc.cz))
38. Ľubušký M., Procházka M., Šimetka O., **Holusková I.** Doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace u RhD negativních žen. Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 9.11.2012, poster. ABSTRAKT ([www.FMMolomouc.cz](http://www.FMMolomouc.cz))

39. Ľubušký M., **Holusková I.**, Procházka M., Studničková M., Vomáčková K. Incidence erytrocytární aloimunizace u těhotných žen. 30. celostátní konference Sekce perinatální medicíny ČGPS ČLS JEP, Jeseník, 10.-12.4.2013, poster. ABSTRAKT (Sborník abstrakt na CD)
40. Ľubušký M., Procházka M., Šimetka O., **Holusková I.** Doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace u RhD negativních žen. 30. celostátní konference Sekce perinatální medicíny ČGPS ČLS JEP, Jeseník, 10.-12.4.2013, poster. ABSTRAKT (Sborník abstrakt na CD)
41. **Holusková I.**, Lubusky M., Studnickova M., Galuszkova D. The incidence of erythrocyte alloimmunization in pregnant women“ na 23rd Regional Congress of the ISBT, Amsterdam, The Netherlands, June 2-5, 2013, poster, ABSTRACT (Vox Sanguinis, 2013, 105 (Suppl. 1), P-543, p. 65- 299, pISSN: 0042-9007, eISSN: 1423-0410)
42. **Holusková I.**, Ľubušký M., Procházka M., Studničková M.: Incidence erytrocytární aloimunizace u těhotných žen, Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 8.11.2013, poster ABSTRAKT ([www.FMM2013.com](http://www.FMM2013.com))
43. **Holusková I.**, Ľubušký M., Studničková M., Procházka M.: Spontánní antepartální RhD aloimunizace, Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 8.11.2013, poster ABSTRAKT ([www.FMM2013.com](http://www.FMM2013.com))
44. Ľubušký M. Procházka M., Šimetka O., **Holusková I.**: Doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace u RhD negativních žen, Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 8.11.2013, poster ABSTRAKT ([www.FMM2013.com](http://www.FMM2013.com))
45. Studničková M., **Holusková I.**, Durdová V., Doležalová T., Ľubušký M. Incidence specifických klinicky významných antierytrocytárních aloprotilátek u žen v I. trimestru těhotenství. 31. celostátní konference Sekce perinatální medicíny ČGPS ČLS JEP, Špindlerův Mlýn, 9.4.2014, poster. ABSTRAKT (Sborník abstrakt na CD)
46. Doležalová T., Durdová V., Studničková M., **Holusková I.**, Ľubušký M. Klinický význam vyšetření RHD genotypu plodu z periferní krve těhotné ženy. 31. celostátní konference Sekce perinatální medicíny ČGPS ČLS JEP, Špindlerův Mlýn, 9.4.2014, poster. ABSTRAKT (Sborník abstrakt na CD)



47. Durdová V., Doležalová V., Studničková M., **Holusková I.**, Ľubušký M. Klinický význam vyšetření KEL genotypu plodu z periferní krve těhotné ženy. 31. celostátní konference Sekce perinatální medicíny ČGPS ČLS JEP, Špindlerův Mlýn, 9.4.2014, poster. ABSTRAKT (Sborník abstrakt na CD)
48. Studničková M., **Holusková I.**, Durdová V., Doležalová T., Ľubušký M. Spontánní antepartální RhD aloimunizace. 31. celostátní konference Sekce perinatální medicíny ČGPS ČLS JEP, Špindlerův Mlýn, 9.4.2014, poster. ABSTRAKT (Sborník abstrakt na CD)
49. Studničková M., **Holusková I.**, Durdová V., Doležalová T., Ľubušký M. Screening nepravidelných antierytrocytárních protilátek u žen v I. trimestru těhotenství. 1. společná konference ČGPS ČLS JEP a SGPS SLS, Brno, 6.-8.6.2014, poster. ABSTRAKT (Sborník abstrakt, s. 57)
50. Studničková M., **Holusková I.**, Durdová V., Doležalová T., Ľubušký M. Incidence specifických klinicky významných antierytrocytárních aloprotilátek u žen v I. trimestru těhotenství. 1. společná konference ČGPS ČLS JEP a SGPS SLS, Brno, 6.-8.6.2014, poster. ABSTRAKT (Sborník abstrakt, s. 73)
51. Doležalová T., Durdová V., Studničková M., **Holusková I.**, Ľubušký M. Klinický význam vyšetření RHD genotypu plodu z periferní krve těhotné ženy. 1. společná konference ČGPS ČLS JEP a SGPS SLS, Brno, 6.-8.6.2014, poster. ABSTRAKT (Sborník abstrakt, s. 58)
52. Doležalová T., Bohmová J., Durdová V., Studničková M., **Holusková I.**, Ľubušký M. Stanovení RHD genotypu plodu z volné fetální DNA v periferní krvi těhotné ženy. 1. společná konference ČGPS ČLS JEP a SGPS SLS, Brno, 6.-8.6.2014, poster. ABSTRAKT (Sborník abstrakt, s. 58)
53. Durdová V., Doležalová V., Studničková M., **Holusková I.**, Ľubušký M. Klinický význam vyšetření KEL genotypu plodu z periferní krve těhotné ženy. 1. společná konference ČGPS ČLS JEP a SGPS SLS, Brno, 6.-8.6.2014, poster. ABSTRAKT (Sborník abstrakt, s. 58-59)
54. Durdová V., Bohmová J., Doležalová V., Studničková M., **Holusková I.**, Ľubušký M. Stanovení KEL genotypu plodu z volné fetální DNA v periferní krvi těhotné ženy. 1. společná konference ČGPS ČLS JEP a SGPS SLS, Brno, 6.-8.6.2014, poster. ABSTRAKT (Sborník abstrakt, s. 59)

55. Studničková M., **Holusková I.**, Durdová V., Doležalová T., Ľubušký M. Spontánní antepartální RhD aloimunizace. 1. společná konference ČGPS ČLS JEP a SGPS SLS, Brno, 6.-8.6.2014, poster. ABSTRAKT (Sborník abstrakt, s. 57-58)
56. **Holuskova I.**, Durdova V., Lubusky M., Galuszkova D., Böhmova J. Assessment of the fetal KEL genotype from cell-free fetal DNA in maternal blood, 47. Jahreskongress der Deutschen Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie (DGTI), Dresden, 9.-12.9 2014, poster, ABSTRACT (Transfusion Medicine and Hemotherapy, 2014, 41 (Suppl.1), IMG-P02, p. 55, pISSN 1660-3796, e-ISSN 1660-3818)
57. **Holuskova I.**, Studnickova M., Lubusky M., Galuszkova D. Spontaneous antepartal RhD alloimmunization, 47. Jahreskongress der Deutschen Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie (DGTI), Dresden, 9.-12.9 2014, poster, ABSTRACT (Transfusion Medicine and Hemotherapy, 2014, 41 (Suppl.1), IMH-P20, p. 63, pISSN 1660-3796, e-ISSN 1660-3818)
58. Bohmova J., Vodicka R., Lubusky M., **Holuskova I.**, Studnickova M., Kratochvilova R., Krejcirikova E., Janikova M., Dhaifalah I. Noninvasive prenatal KEL genotyping using TaqMan Real time PCR and by capillary electrophoresis minisequencing. Eur J Hum Genet, 2014, 22 (Suppl. 1), p. 63, ISSN 1018-4813
59. Studničková M., **Holusková I.**, Durdová V., Doležalová T., Ľubušký M. Screening nepravidelných antierytrocytárních protilátek u žen v I. trimestru těhotenství. Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 7.11.2014, poster. ABSTRAKT ([www.FMMolomouc.cz](http://www.FMMolomouc.cz))
60. Studničková M., **Holusková I.**, Durdová V., Doležalová T., Ľubušký M. Incidence specifických klinicky významných antierytrocytárních aloprotilátek u žen v I. trimestru těhotenství. Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 7.11.2014, poster. ABSTRAKT ([www.FMMolomouc.cz](http://www.FMMolomouc.cz))
61. Doležalová T., Durdová V., Studničková M., **Holusková I.**, Ľubušký M. Klinický význam vyšetření RHD genotypu plodu z periferní krve těhotné ženy. Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 7.11.2014, poster. ABSTRAKT ([www.FMMolomouc.cz](http://www.FMMolomouc.cz))
62. Doležalová T., Bohmová J., Durdová V., Studničková M., **Holusková I.**, Ľubušký M. Stanovení RHD genotypu plodu z volné fetální DNA v periferní krvi těhotné ženy.

- Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 7.11.2014, poster. ABSTRAKT ([www.FMMolomouc.cz](http://www.FMMolomouc.cz))
63. Durdová V., Doležalová V., Studničková M., **Holusková I.**, Ľubušký M. Klinický význam vyšetření KEL genotypu plodu z periferní krve těhotné ženy. Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 7.11.2014, poster. ABSTRAKT ([www.FMMolomouc.cz](http://www.FMMolomouc.cz))
64. Durdová V., Bohmová J., Doležalová V., Studničková M., **Holusková I.**, Ľubušký M. Stanovení KEL genotypu plodu z volné fetální DNA v periferní krvi těhotné ženy. Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 7.11.2014, poster. ABSTRAKT ([www.FMMolomouc.cz](http://www.FMMolomouc.cz))
65. Studničková M., **Holusková I.**, Durdová V., Doležalová T., Ľubušký M. Spontánní antepartální RhD aloimunizace. Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 7.11.2014, poster. ABSTRAKT ([www.FMMolomouc.cz](http://www.FMMolomouc.cz))
66. Durdová V., Bohmová J., Kratochvílová T., Studničková M., **Holusková I.**, Ľubušký M. Stanovení KEL genotypu plodu z volné fetální DNA v periferní krvi těhotné ženy. 32. celostátní konference PERINATOLOGIE A FETOMATERNÁLNÍ MEDICÍNY s mezinárodní účastí, Liberec, 17.-18.4.2015, poster. ABSTRAKT (Sborník abstrakt str. 14, ISBN 978-80-87562-33-8)
67. Studničková M., **Holusková I.**, Durdová V., Kratochvílová T., Ľubušký M. Incidence specifických klinicky významných antierytrocytárních aloprotilátek u žen v I. trimestru těhotenství. 32. celostátní konference PERINATOLOGIE A FETOMATERNÁLNÍ MEDICÍNY s mezinárodní účastí, Liberec, 17.-18.4.2015, poster. ABSTRAKT (Sborník abstrakt str. 25, ISBN 978-80-87562-33-8)
68. Studničková M., **Holusková I.**, Durdová V., Kratochvílová T., Ľubušký M. Screening nepravidelných antierytrocytárních protilátek u žen v I. trimestru těhotenství. 32. celostátní konference PERINATOLOGIE A FETOMATERNÁLNÍ MEDICÍNY s mezinárodní účastí, Liberec, 17.-18.4.2015, poster. ABSTRAKT (Sborník abstrakt str. 26, ISBN 978-80-87562-33-8)
69. **Holuskova I.**, Durdova V., Lubusky M., Galuszkova D., Böhmova J. Determination of the fetal KEL genotype from the cell-free fetal DNA in the peripheral blood of the mother, 25th Regional Congress of the ISBT, London, June 27 - July1,2015, poster,

ABSTRACT (Vox Sanguinis, 2015, 109 (Suppl. 1), P-670, p. 315, pISSN: 0042-9007, eISSN: 1423-0410)

70. **Holuskova I.**, Studnickova M., Lubusky M., Galuszkova D. Spontaneous antepartal RhD alloimmunization, 25th Regional Congress of the ISBT, London, June 27 - July1,2015, poster, ABSTRACT (Vox Sanguinis, 2015, 109 (Suppl. 1), P-676, p. 317, pISSN: 0042-9007, eISSN: 1423-0410)
71. Bohmova J., Lubusky M., Durdova V., **Holuskova I.**, Studnickova M., Kratochvilova T., Vlk R. Effective and clinically applicable non-invasive assessment of KEL1 positive fetuses in KEL1 negative "K" alloimmunized pregnant women. 25th World Congress on Ultrasound in Obstetrics and Gynecology, Canada, Montreal, 11.-14.10.2015, poster. ABSTRACT (Ultrasound Obstet. Gynecol., 2015, 4ž (Suppl. 1), p. 138, ISSN 0960-7692)
72. Durdová V., Bohmová J., Kratochvílová T., Studničková M., **Holusková I.**, Lúbušský M. Neinvazivní stanovení KEL1 pozitivního plodu u KEL1 negativní „K“ aloimunizované těhotné ženy. Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 6.11.2015, poster. ABSTRAKT ([www.FMMolomouc.cz](http://www.FMMolomouc.cz))

## Seznam přednášek/posterů

1. **Holusková I.**, Sláviková M., Entrová A., Galuszková D. Erytrocytární aloimunizace: studie za rok 2000-2007, XV. Česko-slovenský hematologický a transfuziologický sjezd, Špindlerův Mlýn, poster 6.-9.9.2008
2. **Holusková I.**, Sláviková M., Lubušký M., Galuszková D., Vodičková M. Prenatální diagnostika v imunoematologii- současné trendy , I.-IV. Imunoematologické symposium DiaMed, přednáška, 7.4.2009 Ostrava
3. **Holusková I.**, Sláviková M., Andrýsková A., Galuszková D. Erytrocytární aloimunizace v těhotenství pohledem imunoematologa, 12. Pracovní dny v transfuzním lékařství, Olomouc 23.-25.9.2009, přednáška ABSTRAKT (Trans. Hemat. dnes, 2009, 15, Supplementum 3, str. 25, ISSN 1213-5763)
4. **Holusková I.**, Sláviková M., Lubušký M., Galuszková D. Výskyt antierytrocytárních protilátek zachycených v rámci prenatálního screeningu na TO FNOL v letech 2000-2009 v jednotlivých testech. XXIII. Olomoucké hematologické dny, Olomouc, 24.-

- 26.6.2010, poster. ABSTRAKT (Trans. Hemat. dnes, 2010, 16, Supplementum 1, str. 91, ISSN 1213-5763)
5. **Holuskova I.**, Lubusky M., Galuszkova D., Slavikova M., Studnickova M., Vomackova K. The incidence of erythrocyte alloimmunization in pregnant women. XXXIst International Congress of the ISBT, Berlin, Germany, 26.6.-1.7.2010, poster. ABSTRACT (Vox Sang., 2010, 99 (Suppl. 1), P-0841, p. 1-516, pISSN: 0042-9007, eISSN: 1423-0410)
  6. **Holuskova I.**, Lubusky M., Studnickova M., Prochazka M., Galuszková D. Spontánní antepartální RhD aloimunizace, XXIV. Olomoucké hematologické dny, Olomouc, 22.-25.6.2011, poster ABSTRAKT (Trans. Hemat. dnes, 2011, 17, Supplementum 2, str. 75, ISSN 1213-5763)
  7. **Holuskova I.**, Lubusky M., Studnickova M., Prochazka M., Vomackova K. Spontaneous antepartal RhD alloimmunization. 10thWorld Congress in Fetal Medicine, Malta, 26.-30.6.2011, poster.
  8. **Holuskova I.**, Lubusky M., Studnickova M., Prochazka M., Galuszková D Spontánní antepartální RhD aloimunizace, 13.pracovní dny v Transfuzním lékařství, Praha, 6.-8.10.2011, poster ABSTRAKT (Trans. Hemat. dnes, 2011, 17, Supplementum 3, str. 69, ISSN 1213-5763)
  9. **Holuskova I.**, Lubusky M., Studnickova M., Sláviková M., Vodičková M., Galuszková D Incidence erytrocytární aloimunizace těhotných žen v letech 2000-2010 na TO FNOL, 13.pracovní dny v Transfuzním lékařství, Praha, 6.-8.10.2011, poster ABSTRAKT (Trans. Hemat. dnes, 2011, 17, Supplementum 3, str. 66, ISSN 1213-5763)
  10. **Holusková I.**, Lubusky M., Studničková M., Procházka M. Spontánní antepartální aloimunizace. Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 25.11.2011, poster. ABSTRAKT ([www.FMM2011.com](http://www.FMM2011.com))
  11. **Holusková I.**, Lubusky M., Studničková M., Procházka M., Vomáčková K. Spontánní antepartální RhD aloimunizace. 29. konference Sekce perinatální medicíny ČGPS ČLS JEP, České Budějovice, 18.-20.4.2012, poster. ABSTRAKT (Sborník abstrakt na CD)
  12. **Holusková I.**, Lubusky M., Studničková M., Procházka M., Vomáčková K. Spontánní antepartální RhD aloimunizace. Celostátní konference ČGPS ČLS JEP a SSG ČR, Brno, 17.-20.5.2012, poster. ABSTRAKT (Sborník abstrakt, s. 30-31)

13. **Holuskova I.**, Lubusky M., Studnickova M., Galuszkova D, Vomackova K. Spontaneous antepartal RhD alloimmunization, 32nd International Congress of the ISBT, Cancun, Mexico, July 7-12,2012, poster, ABSTRACT (Vox Sanguinis, 2012, 103 (Suppl. 1), P-530, p. 1-271, pISSN: 0042-9007, eISSN: 1423-0410)
14. **Holuskova I.**, Lubusky M., Studnickova M., Galuszkova D, Vomackova K. The incidence of erythrocyte alloimmunization in pregnant women, 32nd International Congress of the ISBT, Cancun, Mexico, July 7-12,2012, poster, ABSTRACT (Vox Sanguinis, 2012, 103 (Suppl. 1), P-524, p. 1-271, pISSN: 0042-9007, eISSN: 1423-0410)
15. **Holusková I.**, Ľubušký M., Procházka M., Studničková M., Vomáčková K., Incidence erytrocytární aloimunizace u těhotných žen, Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 9.11.2012, poster. ABSTRAKT ([www.FMMolomouc.cz](http://www.FMMolomouc.cz))
16. **Holusková I.**, Lubusky M., Studničková M., Procházka M., Vomáčková K. Spontánní antepartální RhD aloimunizace. Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 9.11.2012, poster. ABSTRAKT ([www.FMMolomouc.cz](http://www.FMMolomouc.cz))
17. **Holuskova I.**, Lubusky M., Studnickova M., Galuszkova D. The incidence of erythrocyte alloimmunization in pregnant women“ na 23rd Regional Congress of the ISBT, Amsterdam, The Netherlands, June 2-5, poster, ABSTRACT (Vox Sanguinis, 2013, 105 (Suppl. 1), P-543, p. 65- 299, pISSN: 0042-9007, eISSN: 1423-0410)
18. **Holusková I.**, Ľubušký M., Procházka M., Studničková M.: Incidence erytrocytární aloimunizace u těhotných žen, Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 8.11.2013, poster ABSTRAKT ([www.FMM2013.com](http://www.FMM2013.com))
19. **Holusková I.**, Ľubušký M., Studničková M., Procházka M.: Spontánní antepartální RhD aloimunizace, Moravská konference fetomaternální medicíny, Olomouc, 8.11.2013, poster ABSTRAKT ([www.FMM2013.com](http://www.FMM2013.com))
20. **Holuskova I.**, Durdova V., Lubusky M., Galuszkova D., Böhmova J. Assessment of the fetal KEL genotype from cell-free fetal DNA in maternal blood, 47. Jahreskongress der Deutschen Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie (DGTI), Dresden, 9.-12.9 2014, poster, ABSTRACT (Transfusion Medicine and Hemotherapy, 2014, 41 (Suppl.1), IMG-P02, p. 55, pISSN 1660-3796, e-ISSN 1660-3818)
21. **Holuskova I.**, Studnickova M., Lubusky M., Galuszkova D. Spontaneous antepartal RhD alloimmunization, 47. Jahreskongress der Deutschen Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie (DGTI), Dresden, 9.-12.9 2014, poster,

ABSTRACT (Transfusion Medicine and Hemotherapy, 2014, 41 (Suppl.1), IMH-P20, p. 63, pISSN 1660-3796, e-ISSN 1660-3818)

22. **Holuskova I.**, Studnickova M., Lubusky M., Galuszkova D. Spontánní antepartální RhD aloimunizace u RhD negativních těhotných žen, 5.Hradecká imunohematologická konference, Hradec Králové 20.1.2015, poster
23. **Holuskova I.**, Durdova V., Lubusky M., Galuszkova D., Böhmova J. Determination of the fetal KEL genotype from the cell-free fetal DNA in the peripheral blood of the mother, 25th Regional Congress of the ISBT, London, June 27 - July1,2015, poster, ABSTRACT (Vox Sanguinis, 2015, 109 (Suppl. 1), P-670, p. 315, pISSN: 0042-9007, eISSN: 1423-0410)
24. **Holuskova I.**, Studnickova M., Lubusky M., Galuszkova D. Spontaneous antepartal RhD alloimmunization, 25th Regional Congress of the ISBT, London, June 27 - July1,2015, poster, ABSTRACT (Vox Sanguinis, 2015, 109 (Suppl. 1), P-676, p. 317, pISSN: 0042-9007, eISSN: 1423-0410)
25. **Holuskova I.** Aktuální problematika regionální referenční laboratoře při vyšetřování těhotných žen a novorozenců, včetně zajištění jejich hemoterapie, VI.Hradecká imunohematologická konference, Praha 21.1.2016, přednáška

## 12.2 Ostatní

1. Ľubušký M., Studničková M., Procházka M., Šimetka O., **Holusková I.** Fetomaternální hemoragie, Postgrad. med., 2012, 14 (3), s. 240-247.
2. Skřivánek A., Lubušský M., Studničková M, **Holusková I.**, Procházka M. Epidemiologie a management poruch štítné žlázy v těhotenství. Čes. Gynek., 2013, 78 (1), s. 62-67 ISSN 1210-7832
3. Skřivánek A., Lubušský M., Studničková M., **Holusková I.**, Procházka M. Poruchy funkce štítné žlázy v těhotenství. Čes. Gynek., 2013, 78 (1), s. 99-106 ISSN 1210-7832
4. **Holusková I.**, Entrová A., Galuszková D, Organizace substituční terapie trombokonzentráty ve FN Olomouc, XIII. Slovensko-česká konference o hemostáze a trombóze, Slovenská republika-Martin, 4.-6.5.2006, poster
5. **Holuskova I.**, Lubusky M., Studnickova M., Vomackova K., Ordeltova M., Prochazka M. Fetomaternal haemorrhage in deliveries by cesarean section. XXXIst International

- Congress of the ISBT, Berlin, Germany, 26.6.-1.7.2010, poster. ABSTRACT (Vox Sang., 2010, 99 (Suppl. 1), P-0843, p. 1-516, pISSN: 0042-9007, eISSN: 1423-0410)
6. **Holusková I.**, Entrová A., Galuszková D, Organizace substituční terapie trombokoncentráty ve FN Olomouc, XIII. Slovensko-česká konference o hemostáze a trombóze, Slovenská republika-Martin, 4.-6.5.2006, poster
  7. **Holusková I.**, Sláviková M., Galuszková D., Andrýsková A. Autoimunní hemolytická anémie, I.-IV. Imunohematologické symposium DiaMed, přednáška, 7.4.2009 Ostrava
  8. **Holusková I.**, Lubusky M., Studnickova M., Vomackova K., Ordeltova M., Prochazka M. Fetomaternal haemorrhage in deliveries by cesarean section. XXXIst International Congress of the ISBT, Berlin, Germany, 26.6.-1.7.2010, poster. ABSTRACT (Vox Sang., 2010, 99 (Suppl. 1), P-0843, p. 1-516, pISSN: 0042-9007, eISSN: 1423-0410)
  9. **Holusková I.** Využití imunohematologických metod v moderní hemoterapii, Přednáškový večer Spolku lékařů v Olomouci, Olomouc 18.3.2015, přednáška
  10. **Holusková I.** Potransfuzní reakce, Přednáškový večer Spolku lékařů v Olomouci, Olomouc 18.3.2015, přednáška
  11. **Holusková I.**, Vodičková M., Kalmanová P., Galuszková D.. Zajištění hemoterapie pro pacienty po transplantaci kostní dřeně/periferních kmenových buněk (TKD/TKB) XVII. Slovensko-český hematologický a transfuziologický zjazd, Bratislava, Slovenská republika, 24.9.-27.9.2015, poster. ABSTRACT (Sborník abstrakt str. 117, ISBN 978-80-89797-02-8)



### 12.3 Granty

1. IGA MZ ČR NT 12225-4/2011

Rozsáhlá reprezentativní duální optimalizační a validační studie neinvazivní prenatální diagnostiky *RHD* a *KEL* genotypu plodu pro bezprostřední zavedení do rutinní klinické praxe

(2011-2015), spoluřešitel

## 13 SOUHRN

### **Cíl studie:**

Určení incidence specifických klinicky významných antierytrocytárních aloprotilátek u těhotných žen v I. trimestru těhotenství v olomouckém regionu.

### **Předmět a metodika studie:**

V letech 2000 až 2015 bylo vyšetřeno celkem 54 657 těhotných žen na Transfuzním oddělení Fakultní nemocnice Olomouc. V prvním trimestru těhotenství byl u všech žen proveden screening nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek, a dále pak i identifikace protilátkových nálezů.

### **Výsledky:**

Klinicky významné antierytrocytární aloprotilátky byly detekovány u 1,7 % těhotných žen (899/54 657). Nejčastější příčinou erytrocytární aloimunizace v těhotenství byl antigen "E" 6,3 ‰ (342/54 657), následován antigeny "D" 4,1 ‰ (222/54 657), "M" 1,8 ‰ (97/54 657), "K" 1,3 ‰ (71/54 657), "C" 1,2 ‰ (67/54 657), "c" 0,9 ‰ (47/54 657), "S" 0,4 ‰ (23/54 657), "Jk<sup>a</sup>" 0,2 ‰ (11/54 657), "PP<sub>1</sub>pk" (Tj<sup>a</sup>) 0,1 ‰ (4/54 657) a "Fy<sup>a</sup>" 0,1 ‰ (6/54 657).

### **Závěr:**

I přes provádění profylaxe anti-D imunoglobulinem u RhD negativních žen představuje RhD antigen druhou nejčastější, avšak klinicky nejvýznamnější příčinu mateřské aloimunizace. Klinický problém rovněž představují non-D antigeny z Rh systému, antigeny z Kell systému, méně často antigeny ze systémů MNS a Kidd.

**Klíčová slova:** antierytrocytární aloprotilátky, RhD, incidence

## 14 SUMMARY

### **Aim of the Study:**

To determine the incidence of clinically significant anti-erythrocyte alloantibodies in pregnant women, which can cause severe Hemolytic Disease in the Fetus and Newborn.

### **Subject and method:**

Between the years 2000-2015, a total of 54 657 pregnant women were examined at the Department of Transfusion Medicine at the University Hospital Olomouc. Screening for irregular anti-erythrocyte antibodies followed by identification of the alloantibody was performed in all women at the beginning of the pregnancy.

### **Results:**

Clinically significant anti-erythrocyte antibodies were diagnosed in 1.7% pregnant women (899/54 657). The most common cause of maternal alloimmunization was antigen "E" with an incidence of 6.3‰ (342/54 657), followed by antigen "D" 4.1‰ (222/54 657), "M" 1.8‰ (97/54 657), "K" 1.3‰ (71/54 657), "C" 1.2‰ (67/54 657), "c" 0.9‰ (47/54 657), "S" 0.4‰ (23/54 657), "Jk<sup>a</sup>" 0.2‰ (11/54 657), "PP<sub>1pk</sub>" (Tj<sup>a</sup>) 0.1‰ (4/54 657) and antigen "Fy<sup>a</sup>" 0.1‰ (6/54 657).

### **Conclusion:**

Despite performing prophylaxis for RhD alloimmunization by administering anti-D immunoglobulin to RhD negative women during pregnancy and after the birth of an RhD positive child, antigen RhD still represents the 2nd most frequent cause of maternal erythrocyte alloimmunization. The remaining clinically significant alloimmunizations are caused by non-D antigens of the Rh system, antigens of the Kell system, and rarely observed antigens of the MNS and Kidd blood systems.

**Key words:** anti-erythrocyte alloantibodies, RhD, incidence

## 15 PŘÍLOHY

Příloha č. 1

**Clinical potential of effective non-invasive exclusion of *KEL1* positive fetuses in *KEL1* negative pregnant women.** Fetal Diagn. Ther. 2015 (2014 IF-2,939)

Příloha č. 2

**Incidence erytrocytární aloimunizace u těhotných žen v olomouckém regionu.** Čes. Gynek., 2013, 78 (1), s.56-61

Příloha č. 3

**Erytrocytární aloimunizace těhotných žen, klinický význam a laboratorní diagnostika.** Čes. Gynek., 2013, 78 (1), s.89-99

Příloha č. 4

**Doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace u RhD negativních žen.** Čes. Gynek., 2013, 78 (2), s. 132 – 133.

Příloha č. 5

**Screening nepravidelných antierytrocytárních protilátek u žen v I. trimestru těhotenství**  
Poster

Příloha č. 6

**Incidence specifických klinicky významných antierytrocytárních aloprotilátek u žen v I. trimestru těhotenství**  
Poster

Příloha č. 7

**Klinický význam vyšetření *KEL* genotypu plodu z periferní krve těhotné ženy**  
Poster

Příloha č. 8

**Klinický význam vyšetření *RHD* genotypu plodu z periferní krve těhotné ženy**  
Poster

Příloha č. 9

**Doporučení k provádění prevence RhD aloimunizace u RhD negativních žen**  
Poster

Příloha č. 10

**Spontánní antepartální RhD aloimunizace**  
Poster