

Příčiny, prevence a diagnostika aloimunizace v těhotenství

Pavel Calda

Gynekologicko-porodnická klinika 1.LF UK a VFN Praha

Korespondenční adresa:

Gynekologicko-porodnická klinika 1.LF UK a VFN, Apolinářská 18, 128 51 Praha 2, Czech Republic, tel.: +420602292471, email: calda@gynstart.cz

Publikováno: 6. 10. 2009 Přijato: 23. 8. 2009 Akceptováno: 7. 9. 2009

Actual Gyn 2009, 1, 55-60 ISSN 1803-9588 © 2009, Aprofema s.r.o.

Článek lze stáhnout z www.actualgyn.com

Citujte tento článek jako: Calda P. Příčiny, prevence a diagnostika aloimunizace v těhotenství. Actual Gyn. 2009;1:55-60

PREVENTION, DIAGNOSTICS AND TREATMENT OF ALLOIMUNIZATION

Review article

Abstract

Introduction of routine anti-D prophylaxis in Czech Republic in the year 1971 resulted in significant decrease in the incidence of alloimmunization. Alloimmunization can affect all RhD-negative women with RhD-positive fetus. Candidates of RhD prophylaxis are all RhD negative women without detectable RhD antibodies. Causes, different approaches to prevention and diagnostic of alloimmunization are discussed

Key words:

alloimmunization, prenatal diagnostics, anti-D prophylaxis

Přehledový článek

Abstrakt

Profylaxe anti-D imunoglobulinem znamenala významný pokles výskytu aloimunizace (u nás od r. 1971). Aloimunizací jsou potencionálně ohroženy všechny RhD negativní těhotné s RhD pozitivním plodem. Kandidátkami na RhD profylaxi v průběhu těhotenství, resp. po porodu, jsou všechny těhotné, které jsou RhD negativní a nemají dosud vytvořeny anti-D protilátky (mají negativní nepřímý antiglobulinový test). V článku jsou diskutovány příčiny, způsoby prevence v různých situacích a diagnostika aloimunizace.

Klíčová slova:

aloimunizace, prenatální diagnostika, anti-D profylaxe

Úvod

K mateřské aloimunizaci, také dříve nazývané izoimunizací, dochází senzibilizací imunitního systému matky cizími erytrocytárními povrchovými antigeny, které navodí produkci protilátek (imunoglobulinů IgG). K senzibilizaci dochází podáním nekompatibilní krevní transfuze, transplacentárním přestupem fetálních erytrocytů při porodu, traumatu, spontánním či indukovaném potratu, ektopické graviditě či invazivních diagnostických a terapeutických výkonech. Pokud žena, která již byla senzibilizována, otěhotní, ohrožují její protilátky IgG (procházejí placentou) erytrocyty plodu. Za předpokladu, že erytrocyty plodu nesou povrchové antigeny odpovídající typu mateřské protilátky, tj. dochází k vazbě protilátka-antigen, dochází k destrukci erytrocytů vedoucí k anemizaci plodu. Důsledky pro plod závisí na závažnosti anemizace: od lehké anémie s hyperbilirubinemií a postnatální žloutenkou, přes intrauterinní hydrops a ascites plodu až k jeho intrauterinnímu odumření. Erytrocytární aloimunizace ohrožuje plod dvakrát:

1. Intrauterinní anémií vyvolanou urychlenou destrukcí senzibilizovaných erytrocytů
2. Postnatální akumulací hemolytických produktů (nekonjugovaný bilirubin).

Tabulka 1. Příčiny senzibilizace matky

Transfuze krve	(nekompatibilní v systému Rh i dalších subsystémech – Kell, E atd.)
Fetomaternální krvácení	v průběhu těhotenství (krvácení ve II. a III. trimestru, subchoriální či retroplacentární hematoma, klinicky nemá fetomaternální transfuze) za porodu
Potrat	interrupce starší 30 dnů po koncepci (44 dnů po PM) spontánní abort starší 30 dnů po koncepci (44 dnů po PM) odumření plodu v děloze
Ektopická gravidita	
Abrupce placenty	
Trauma břicha (autonehoda, pád)	
Invazivní výkony v těhotenství	amniocentéza biopsie choria punkce pupečníku zevní obrat plodu (při poloze koncem pánevním) manuální vybavení placenty

Historický vývoj

Systém Rh byl objeven již v roce 1940 Landsteinerem a Wienerem, kteří vstříkovali erytrocyty opic Makak Rhesus králíkům a morčatům. Takto získané protilátky míchali s lidskou krví, která v 85 % vykazovala aglutinaci (RhD pozitivita). Zbýlých 15 % vzorků bylo Rh D negativ-

ních, což dodnes platí o výskytu RhD negativity v kavkazské populaci. Levine prokázal, že hemolytická nemoc novorozence vzniká v důsledku Rh inkompatibility matky a plodu, tj. Rh pozitivní plod (Rh pozitivitu zdědil po otci) Rh negativní matky je ohrožen anemizací. Přelom nastal v roce 1960, kdy Stern zjistil, že podáním RhD (anti-D) imunoglobulinu lze zabránit rozvoji aloimunizace. Prevence aloimunizace pomocí anti-D imunoglobulinu snížila v rozvinutých zemích výskyt závažných případů fetální anémie na minimum.

Mechanismus působení anti-D globulinu

Exogenní aplikace anti-D imunoglobulinu potlačuje imunitní odpověď u matky. Anti-D imunoglobulin vyváže erytrocyty plodu, takže tento antigen nestimuluje imunitní systém matky k produkci protilátek proti antigenu D. Komplexy protilátky s fetálními erytrocyty jsou pak vychytány ve slezině makrofágovým systémem a metabolizovány. Komplexy erytrocytů s protilátkou anti-D se váží na specifický receptor B lymfocytů pro antigen (BCR), ale zároveň svým Fc fragmentem protilátky na Fc receptor přítomný na B lymfocytech matky. Tato současná vazba imunokomplexu na antigenní receptor a Fc receptor přenáší inhibiční signál, a tak jsou specifické B lymfocyty pro D-antigen anergizovány a nevyvíjí se do plazmatických buněk schopných produkovat protilátky. Tímto mechanismem je pak potlačena primární protilátková reakce a nedojde k tvorbě protilátek proti antigenu D.

Dokud neexistovala anti-D profylaxe, došlo přibližně u 20 % RhD negativních žen, které porodily RhD pozitivní plod, k senzibilizaci (u zbylých 80 % buď nedošlo k dostatečně významné fetomaternální hemoragii, nebo ochranu proti senzibilizaci zajistila inkompatibilita v ABO systému). Anti-D profylaxe snížila riziko senzibilizace na méně jak 1%. Současně s tím stoupl relativní význam aloprotilátek c, C, e a E a ostatních protilátek proti antigenům anti-Kell (K, k), anti-Duffy (Fy^a) a anti-Kidd (Jk^a).

I když je anti-D profylaxe nesmírně úspěšná, odhaduje se, že u 0,27% RhD negativních žen stále ještě dojde k senzibilizaci. Příčinou je buď selhání doporučeného profylaktického postupu (doporučuje se podat anti-D imunoglobulin do 72 hodin od předpokládaného přestupu erytrocytů do mateřského oběhu) nebo 0,1–0,2% výskyt spontánní imunizace, i přes řádně provedenou profylaxi. Část těhotných je imunizována v průběhu gravidity v důsledku klinicky němé fetomaternální hemoragie, ke které může docházet nejspíše mezi 28.–40. týdnem těhotenství. Intrauterinní fetomaternální hemoragie v rozsahu 3–30 ml je dobře literárně prokázána a jedinou ochranou by bylo preventivní podávání anti-D globulinu všem nesenzibilizovaným RhD negativním ženám ve 28. týdnu těhotenství (běžné v některých zemích). Toto opatření aloimunizaci anti-D zcela neeliminuje, ale dále ji snižuje. Proto některé země doporučují podávání anti-D imunoglobulinu matce prenatálně i postnatálně. Prevence aloimunizace u krevních skupin, jako jsou např. Kell a c, dosud možná není.

V českých zemích se řídila prevence RhD imunizace do roku 1972 Směrnicemi ministerstva zdravotnictví ČSR č. 18/1971 Věst. MZ ČSR „Ochrana proti Rh izoimunizaci“ (reg. v části 38/1971 Sb.) vydanými podle § 70 odst. 1 písm. c) zákona č. 20/1966 Sb. o péči o zdraví lidu, výnos

ze dne 30. 11. 1971 č.j. LP-252.3-29. 6. 71. Díky této směrnicí se začala prevence provádět systematicky. Anti-D globulin v dávce 250 mikrogramů měly dostat všechny RhD negativní ženy bez prokazatelných protilátek anti-D po porodu RhD pozitivního dítěte nejpozději do 72 hodin po porodu. Výjimkou byla současná inkompatibilita v systému AB0 mezi matkou a plodem. U porodu císařským řezem, předčasného odlučování lůžka a obecně porodu s rizikem větší fetomaternální hemoragie, byla doporučena vyšší dávka tj. 500 mikrogramů IgG anti-D.

V roce 1989 měly být tyto směrnice nahrazeny metodickým návodem, který byl sice připravován, ale nikdy nebyl přijat. Od té doby se anti-D profylaxe řídí postupy „lege artis“. Z dostupných epidemiologických dat lze usuzovat, že imunizace RhD je problémem v ČR zvládnutý a počet imunizovaných těhotných, v důsledku nepodání prevence, nestoupá. Problém může nastat u migrantů ze zemí s nižší úrovní zdravotní péče. Protože aloimunizace je proces, který se vyskytuje až na výjimky u multipar (ve druhém a zhoršuje se v dalších těhotenstvích) nízká natalita v ČR paradoxně působí vedle anti-D profylaxe jako další „ochranný“ faktor na výskyt aloimunizace.

Poslední dobou v souvislosti se vznikem řady dalších „Doporučených postupů“ a se vstupem dalších subjektů na trh anti-D profylaxe, iniciovala perinatologická sekce vznik nového doporučení k prevenci Rh D imunizace v těhotenství. Nicméně směrodatné zůstane vždy rozhodnutí lékaře, který bude postupovat tak, aby aloimunizaci v těhotenství zabránil v současnosti dostupnými prostředky a metodami.

Návrh nového doporučení se snaží reflektovat fakt, že potencionální přestup červených krvinek (fetomaternální transfuze) je v počátku těhotenství velmi malý a dávkování anti-D je možné snížit (na trhu je t.č. nově dávkování 100 mikrogramů). Chybou však není použít i dávkování vyšší. Velká diskuze je kolem toho, kdy začít s podáváním anti-D profylaxe, protože do osmého týdne těhotenství dle PM, tedy do 6. týdne po koncepci, je potencionální přestup fetálních erytrocytů velmi malý (zamlklý potrat, interrupce). Kvalitních publikací, o které by se mohlo opírat podávání anti-D před 12. týdnem těhotenství je nedostatek. Po kompletním spontánním potratu bez instrumentální revize před 12. týdnem by podání anti-D nemělo být nezbytné. Signifikantní FMT se vyskytuje před 12. týdnem jen po kyretáži k odstranění produktů koncepce z dělohy. Anti-D Ig by měl být podán před 12. týdnem při všech intervencích vedoucích k evakuaci dělohy. Dle literárních údajů má toto doporučení hodnocení B-III, kde B znamená druhou nejvyšší sílu doporučení a III kvalitu bez provedené studie s randomizací. Ti, co doporučují podávat anti-D profylaxi po instrumentálním potratu zamlklém i umělém, vycházejí z toho, že nezdědka lze odhadnout stáří těhotenství přesně a chyba v odhadu stáří těhotenství (a nepodání profylaxe) může mít pro ženu fatální důsledky. Imunizace je dosud celoživotní stigmatizací vážně ohrožující každé další těhotenství a v nejtěžších případech znemožňující ženě otěhotnět.

Dalším diskutabilním momentem je podávání anti-D profylaxe ve druhé polovině těhotenství. Zde je síla doporučení A-I, tedy nejsilnější, ověřená randomizovanými studii. Domnívám se, že síla tohoto doporučení odpoví-

dá pojetí léčby „lege artis“, tj. anti-D profylaxe by měla být podána, ale neměla by být vynucována na úrovni metodických doporučení či vyhlášek. Obávám se, že „povinné podávání“ by vedlo ke zbytečné administrativní zátěži, kdy by lékaři museli „pronásledovat“ migrující pacientky v obavě z možného postihu. Pokud těhotná absolvuje obvyklou prenatalní péči u jednoho lékaře a dostavuje se k pravidelným prohlídkám, podání anti-D ve 28. týdnu těhotenství lze na základě současných vědomostí doporučit. Je však nutné nejen před tímto podáním vyloučit přítomnost protilátek, ale tuto informa-

Kritické posouzení smyslu (kvality průkaznosti) anti-D imunoprofylaxe		
Doporučení	Síla doporučení	Kvalita průkaznosti
Postpartum Profylaxe		
• Anti-D 120–300 µg během 72 hodin po porodu	A	I
• Anti-D až 28 dní po porodu	B	III
• Rutinní testování fetomaternální transfuze po porodu	C	Nedostatečná
Antepartum Profylaxe		
• Anti-D 300 µg ve 28. týdnu	A	I
• Opakování screenu protilátek ve 28. týdnu	C	III
• Rutinní vyšetřování otce	C	III
• Podání Anti-D globulinu při „slabém D“ (např. Du)	D	III
• Opakované podání anti-D ve 40. týdnu	C	III
Časně těhotenské ztráty a ukončení těhotenství		
• Anti-D 120–300 µg po spontánním /indukovaném potratu	B	II-III
• Screening protilátek před podáním anti-D globulinu po potratu	B	III
• Ektopická gravidita: 120–300 µg anti-D globulinu	B	III
• Molární těhotenství: 120–300 µg anti-D globulinu	B	III
Invazivní diagnostické výkony		
• Amniocentéza: 300 µg Rh imunního globulinu	B	II-III
• Biopsie choria: 120–300 µg Rh imunního globulinu	B	II
• Punkce pupečníku: 300 µg Rh imunního globulinu	B	II-III

Antepartální hemorhagie, abdominální trauma, zevní obrat na hlavičku, fetomaternální transfuze (FMT)

• Kvantitativní posouzení fetomaternální transfuze	B	III
• Anti-D 120–300 µg následně po placentárním traumatu	B	III
Souhlas		
• Informovaný souhlas před podáním anti-D globulinu	C	III

A – vysoká kvalita.....D - nejnižší míra kvality
I – průkaz získaný z randomizované studie, II – Průkaz získaný některým typem studie bez randomizace, III – názor respektované autority

ci zaznamenat do těhotenské průkazky. Také je třeba počítat s poločasem anti-D globulinu, který bude jako „protilátka“ detekovatelný často až do porodu. Ze známých antigenů vyvolává nejsilnější imunologickou odpověď antigen D.

Výskyt a mechanismus aloimunizace

Asi 10 % těhotenství u bílé rasy je RhD inkompatibilní. Dokud se neprováděla anti-D profylaxe, došlo k senzibilizaci (imunizaci) jen u méně jak u 1/5 těchto těhotenství. Na vznik a závažnost imunizace mají vliv tyto tři faktory:

- objem fetomaternálního přestupu erytrocytů (fetomaternální hemorhagie)
- stupeň imunitní odpovědi matky
- inkompatibilita v systému AB0.

K menšímu či většímu přestupu erytrocytů z oběhu plodu do oběhu matky (fetomaternální transfuzi) dochází až v 75 % těhotenství. Čím je těhotenství pokročilejší, tím vyšší je výskyt tohoto jevu a nejčastěji je prokazatelný při vlastním porodu. Při podezření na transplacentární přestup fetálních erytrocytů je k průkazu doporučován rozetový screeningový test. Při podezření na větší rozsah hemorhagie, lze rozsah posoudit Kleihauer-Betke testem. Tato informace má praktický dopad: pokud je objem fetomaternální transfuze menší než 30 ml erytrocytů (uvádí se 15 ml Ery a 30 ml krve, 20 µg anti-D na 1 ml Ery; WHO doporučuje 25 µg), vystačíme s jednou profylaktickou dávkou anti-D globulinu. Předpokládá se, že u 15 až 50 % porodů dojde k fetomaternální hemor-

hagii dostatečné k senzibilizaci rodičky, tj. k přestupu 0,1 ml a více, ve vzácných případech i více než 30 ml.

Aloimunizace non-Rh antigeny

Díky úspěšné imunoglobulinové profylaxi je výskyt anti-D protilátek u těhotných stále vzácnější. Na významu tak relativně získaly protilátky proti jiným erytrocytárním antigenům. Absolutní počty novorozenců postižených hemolytickou nemocí způsobenou těmito antigeny jsou poměrně nízké, jsou stabilní či jen mírně stoupají. Profylaxe u antigen negativních těhotných neexistuje. Nicméně i tyto erytrocytární antigeny mohou vyvolat protilátkovou odpověď u matky a ty mohou být příčinou hemolýzy a anémie u plodu.

Těhotné s protilátkami proti méně obvyklým erytrocytárním antigenům mají pozitivní nepřímý antiglobulinový test v I. trimestru gravidity. Imunohematologická laboratoř určí konkrétní typ protilátky. Pokud se jedná o protilátky, které mohou způsobit hemolýzu u plodu, např. anti-c, anti-Kell či anti-E, těhotné se monitorují obdobně jako při aloimunizaci RhD.

Pokud se jedná o protilátky, které nezpůsobují fetální hemolýzu, jako anti-Le^a a anti-Le^b (Lewis antigeny), není důvod k dalšímu monitorování titrů. Těhotné s protilátkami, o kterých se ví, že mohou způsobit jen mírnou hemolýzu, jako anti-Hil, anti-Hu a anti-Vw, jsou sledovány výhradně neinvazivně, protože riziko invazivních výkonů je vyšší než riziko hemolytického onemocnění plodu. Pokud se zjistí protilátka nejistého chování, je na místě monitorování jako u protilátek vyvolávající hemolýzu. Konzultace těhotných týkající se možných rizik aloimunizace, jejího monitorování a léčby, by měla být realistická, ale nekriticky optimistická.

Ve dvou případech je management imunizace vyvolané méně obvyklými antigeny jiný než u RhD aloimunizace. Za prvé se jedná o aloimunizace c, E a C antigeny, protože jsou obavy, že k hemolýze může docházet už při titrech nižších než 16. Pokud je titer stabilní a není vyšší než 4 je obvykle postupováno konzervativně. Při vzestupu titru korelujeme s měřením v arteria cerebri media a při podezření na anemizaci plodu indikujeme invazivní vyšetření.

Za druhé se jedná o aloimunizaci Kell antigenem. Předpokládá se, že anti-Kell protilátky destruuji erytroidní prekurzory. Vzniká tak anémie bez většího vzestupu hladin bilirubinu ve vodě plodové. Pouze 5 % Kell negativních senzibilizovaných žen nosí plod ohrožený anémií, protože 96 % mužů je Kell negativních (**Tab. 2**)

Tabulka 2. Jiné erytrocytární protilátky a hemolytická nemoc novorozence

Způsobují hemolýzu	Typ protilátky
Často	Kell, c, E
Méně často	e, C, cE, Ce, C ^w , Kp ^a , Kp ^b , k, Jk ^a , s, Wr ^a , Fy ^a
Vzácně	Biles, Co ^a , Di ^a , Di ^b , Do ^a , Ena, Fy ^b , Good, Heibel, Jk ^b , Lu ^a , Lu ^b , M, Mia, Mta, N, Radin, S, U, Yt ^a , Zd
Žádný dokumentovaný případ	Le ^a , Le ^b , P

ABO inkompatibilita

Inkompatibilita v systému ABO do jisté míry chrání před senzibilizací matky: předpokládá se, že erytrocyty, které přestoupí do oběhu matky, jsou destruovány protilátkami systému ABO (anti-A nebo anti-B) dříve, než mohou vyvolat imunitní reakci. Zatímco u ABO – kompatibilního plodu je riziko aloimunizace matky asi 16%, u ABO inkompatibilního plodu jen 1,5–2%. Ochranný efekt platí pro inkompatibilitu RhD antigenu a nikoli non-Rh antigenů. Tento typ ABO inkompatibility může vyvolat také mírnou fetální hemolýzu. Protože však většina anti-A a anti-B protilátek jsou třídy IgM, které neprostupují placentou, nevede fetální hemolýza k těžší anémii či hydropsu. Bohužel ale i při mírné anémii může hemolýza vést k hyperbilirubinémii, která neléčená ohrožuje plod až jádrovým ikterem; obvyklé sledování hladin bilirubinu plodu po porodu by mělo být dostatečným ochranným opatřením. Prenatální péče týkající se ABO inkompatibility není potřebná.

Prevence aloimunizace

Profylaxe anti-D imunoglobulinem znamenala významný pokles výskytu aloimunizace. Aloimunizací jsou potenciálně ohroženy všechny RhD negativní těhotné. Kandidátkami na RhD profylaxi v průběhu těhotenství, resp. po porodu, jsou všechny těhotné, které jsou RhD negativní a nemají dosud vytvořeny anti-D protilátky (mají negativní nepřímý antiglobulinový test). Každá těhotná by měla mít vyšetřenu krevní skupinu v systému ABO, Rh, a screening protilátek (nepřímý antiglobulinový test) již mezi 10.-16. týdnem těhotenství.

Chyby a omyly při anti-D profylaxi

I když anti-D profylaxe byla zavedena od roku 1968, stále se setkáváme s chybami a omyly při aplikaci anti-D imunoglobulinu. Vedle opomenutí aplikace profylaxe je to neadekvátní množství podaného imunoglobulinu. Pokud se nepodaří aplikovat profylaxi do doporučených 72 hodin po porodu, má smysl podat imunoglobulin i později až do 28 dnů po porodu, i když s prodloužením intervalu riziko imunizace stoupá.

Závěr

Prevence a léčba aloimunizace v těhotenství je jedním z modelových úspěchů moderního porodnictví. Prevencí se daří zabránit aloimunizaci až v 99 %. Stále však musíme řešit jednotlivé případy, které i dnes mohou probíhat fatálně. Relativně stoupl význam aloimunizace non-Rh antigeny, kde je výskyt stabilní (profylaxe není možná), snad mírně vzrůstající. Pacientkám, u kterých přece jen dojde k aloimunizaci, můžeme nabídnout heterologní inseminaci dárce RhD negativním, preimplantační genetickou diagnostiku či efektivní monitorování pomocí neinvazivního vyšetřování průtoků v arteria cerebri media (korelující s počtem erytrocytů) a léčbu pomocí intrauterinní transfuze. Protože invazivní výkony v těhotenství (intraumbilikální transfuze) jsou spojeny s malým, ale nezanedbatelným rizikem pro plod, lze předpokládat, že v nedaleké budoucnosti se podaří nalézt neinvazivní postupy bezpečné pro matku i plod.

Literatura

1. American College of Obstetrics and Gynecology: ACOG practice bulletin. Prevention of Rh D alloimmunization. Number 4, May 1999 (replaces educational bulletin Number 147, October 1990)
2. Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. Int J Gynaecol Obstet. 1999 Jul;66(1):63-70
3. Bowman J. The management of hemolytic disease in the fetus and newborn. Semin Perinatol. 1997 Feb;21(1):39-44
4. Calda P, Žižka Z, Zlatohlávková B, Plavka R, Krofta L, Hrušková H, Kvasnička J, Živný J. Diagnostika a léčba erytrocytární aloimunizace v těhotenství. Česká gynekologie. 1998;63(3):170-175
5. Costa JM, Giovannardi Y, Ernault P, et al. Fetal RhD genotyping in maternal serum during the first trimester of pregnancy. Br J Haematol. 2002 Oct;119(1):255-60
6. Fung Kee Fung K, Eason E. Prevention Of Rh Alloimmunizations, OGC Clinical Practice Guidelines No. 133, September 2003
7. Gabbe SG, Niebyl JR, Simpson JL, eds. Obstetrics: Normal and Problem Pregnancies. 3rd ed. New York, NY: Churchill Livingstone; 1996
8. Harman CR, Bowman JM, Manning FA, Menticoglou SM. Intrauterine transfusion—intraperitoneal versus intravascular approach: a case-control comparison. Am J Obstet Gynecol. 1990 Apr;162(4):1053-9
9. Kvasnička J, Rypáčková B, Calda P, Hájek Z. Prenatal determination of fetal RhD (Rhesus positive) type by an amplification of DNA, Sborník lékařský. 1998;99(1):13-20
10. Legler TJ, Lynen R, Maas JH, et al. Prediction of fetal Rh D and Rh CcEe phenotype from maternal plasma with real-time polymerase chain reaction. Transfus Apheresis Sci. 2002 Dec;27(3):17-23
11. Zhong XY, Holzgreve W, Hahn S. Detection of fetal Rhesus D and sex using fetal DNA from maternal plasma by multiplex polymerase chain reaction. BJOG. 2000 Jun;107(6):766-9
12. Hromadnikova I, Vesela K, Benesova B, Nekovarova K, Duskova D, Vlk R, Spalova I, Gerychova R, Hakenova A, Rosenbaumova Z, Vlasin P, Vlachova A, Palasek V, Roznakova E, Calda P. Non-invasive fetal RhD and RhCE genotyping from maternal plasma in alloimmunized pregnancies. Prenat Diagn. 2005 Dec;25(12):1079-83
13. Hromadniková I, Veselá K, Benešová B, Nekovářová K, Dušková D, Vlk R, Špálová I, Gerychová R, Hakenová A, Janoušková M, Rosenbaumová Z, Vlašín P, Vlachová A, Smejkal P, Palásek V, Langrová E, Rožňáková E, Calda P. První zkušenosti s neinvazivní Rh genotypizací plodu z periferní krve u aloimunizovaných těhotenství. Transfuzie a hematologie dnes. 2005;11:17-20
14. Hromadniková I, Žejšková L, Doucha J, Wagenknecht D. Neinvazivní prenatální diagnostika z periferní krve matky je prováděna na fragmentované extracelulární fetální DNA o velikosti < 500 bp. Transfuzie a hematologie dnes. 2006;12(2):95-99

15. Hromadníková I. Komentář k článku Boj s Rh inkompatibilitou by mohl být brzy mnohem snazší. *Gynekologie po promoci*. 2006;6(4):28-29
16. Hromadníková I, Doucha J, Benešová B, Veselá K, Rožňáková E, Hakenová A. Neinvazivní Rhc genotypizace plodu z periferní krve těhotných žen. *Transfuzie a hematologie dnes*. 2005;11:14-16
17. Liley HG. Rescue in inner space: management of Rh hemolytic disease. *J Pediatr*. 1997 Sep;131(3):340-2
18. Lo YM, Hjelm NM, Fidler C, et al. Prenatal diagnosis of fetal RhD status by molecular analysis of maternal plasma. *N Engl J Med*. 1998 Dec 10;339(24): 1734-8
19. Marcus RG, Crewe-Brown H, Krawitz S, Katz J. Feto-maternal haemorrhage following successful and unsuccessful attempts at external cephalic version. *Br J Obstet Gynaecol*. 1975 Jul;82(7):578-80
20. Mari G, Deter RL, Carpenter RL, et al. Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. Collaborative Group for Doppler Assessment of the Blood Velocity in Anemic Fetuses. *N Engl J Med*. 2000 Jan 6;342(1):9-14
21. Moise KJ Jr. Red blood cell alloimmunization in pregnancy. *Semin Hematol*. 2005 Jul;42(3):169-78
22. Nicolaides KH, Rodeck CH, Mibashan RS, Kemp JR. Have Liley charts outlived their usefulness? *Am J Obstet Gynecol*. 1986 Jul;155(1):90-4
23. Pereira L, Jenkins TM, Berghella V. Conventional management of maternal red cell alloimmunization compared with management by Doppler assessment of middle cerebral artery peak systolic velocity. *Am J Obstet Gynecol*. 2003 Oct;189(4):1002-6
24. Salem L. Rh Incompatibility. *eMedicine Journal* [serial online]. 2001. Available at: <http://www.emedicine.com/emerg/topic507.htm>
25. Lubušký M. Prevence Rh (D) aloimunizace u Rh (D) negativních žen. *Prakt. Gyn*. 2008;12(2):100-103
26. Tran S, Caughey AB. Erythrocyte Alloimmunization and Pregnancy. *eMedicine Journal* [serial online]. 2001. Available at: <http://www.emedicine.com/med/topic3529.htm>
27. Sikkel E, Vandenbussche FP, Oepkes D, et al. Amniotic fluid delta OD 450 values accurately predict severe fetal anemia in D-alloimmunization. *Obstet Gynecol*. 2002 Jul;100(1):51-7
28. Woolf SH, Battista RN, Angerson GM, Logan AG, Eel W. Canadian Task Force on the Periodic Health Exam. Ottawa. Canada Communication Group; 1994. p. XXXVII
29. Zimmerman R, Carpenter RJ, Durig P, Mari G. Longitudinal measurement of peak systolic velocity in the fetal middle cerebral artery for monitoring pregnancies complicated by red cell alloimmunisation: a prospective multicentre trial with intention-to-treat. *BJOG*. 2002 Jul; 109(7):746-52
30. Zizka Z, Calda P, Zlatohlavkova B, Haakova L, Cerna M, Jirasek JE, Fait T, Hajek Z, Kvasnicka J. Massive fetomaternal transplacental hemorrhage as a perinatology problem, role of ABO fetomaternal compatibility - case studies. *Med Sci Monit*. 2001;7(2):308-11
31. Stern K, Goodman HS, Berger M. Experimental isoimmunisation to hemoantigens in man. *Journal of Immunology*. 1961;87:89
32. National Blood Authority. Guidelines on the prophylactic use of Rh D immunoglobulin (anti-D) in obstetrics 2003, N. H. M. R. C., Canberra, A. C. T.