

Przeciwciała anty-K u kobiet ciężarnych oraz badania genu kodującego antygen K u płodów

Anti-K antibodies in pregnant women and genotyping of K antigen in foetuses

Żupańska Barbara, Nowaczek-Migas Maria, Bogumiła Michalewska, Wielgoś Mirosław*, Orzińska Agnieszka

Zakład Immunologii Hematologicznej i Transfuzjologicznej, Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie oraz
*I Katedra i Klinika Położnictwa i Ginekologii Akademii Medycznej w Warszawie.

Streszczenie

Cel pracy:

1. Przedstawienie doświadczenia dotyczącego związku przeciwciał anty-K z układu Kell u kobiet ciężarnych z występowaniem konfliktu matczyno-płodowego oraz choroby hemolitycznej u płodu i noworodka (ChHPN).
2. Wskazanie etapów diagnostyki metodami serologicznymi i molekularnymi istotnych dla bezpieczeństwa płodu i noworodka.

Materiał i metody: 27 kobiet z przeciwciałami anty-K. Badania serologiczne antygenu K u ojców i dzieci. Badania genu *KEL1* u płodów z DNA izolowanego z amniocytów od matek, metodą dyskryminacji alleli przy użyciu real-time PCR.

Wyniki: U większości kobiet przeciwciała anty-K wytworzone zostały po przetoczeniach krwi w przeszłości, a nie w wyniku ciąży; ojcowie byli zwykle K ujemni. Konflikt matczyno-płodowy towarzyszył przeciwciałom anty-K tylko u 6 z 27 kobiet. ChHPN wystąpiła u 5 dzieci; 3 postaci ciężkie, 1 zgon, 1 postać łagodna. Wprowadzenie przez nas genotypowania płodu w 2006r pozwoliło uniknąć kordocentezy u 2 matek, ponieważ okazało się, że heterozygotyczni (Kk) ojcowie nie przekazali płodowi genu *KEL1*, w przeciwieństwie do poprzednich ciąż, które zakończyły się utratą dzieci.

Wnioski:

1. W każdym przypadku ciąży z przeciwciałami anty-K trzeba zbadać antygen K u ojca.
2. U ojców K(+) należy ocenić fenotyp K (homozygota czy heterozygota); jeżeli ojciec jest heterozygotą to trzeba zbadać gen *KEL1* u płodu, a nie wykonywać kordocentezy.
3. Jeśli gen *KEL1* nie jest wykryty u płodu, to w aktualnej ciąży nie wystąpi konflikt matczyno-płodowy i ChHPN.
4. Genotypowanie *KEL1* u płodu, po pobraniu materiału przez ginekologa, może być wykonane w naszym zakładzie u każdej ciężarnej z anty-K i heterozygotycznym ojcem.

Słowa kluczowe: **alloprzeciwciała anty-K w ciąży / konflikt matczyno-płodowy / choroba hemolityczna płodu/noworodka / genotypowanie *KEL1* u płodu /**

Adres do korespondencji:

Barbara Żupańska,
Instytut Hematologii i Transfuzjologii,
Chocimska 5, 00-957 Warszawa
e-mail: zupanska@ihit.waw.pl,
tel: 22 8493651 – 124, 22 8495742, 22 8251668

Otrzymano: 15.11.2007

Zaakceptowano do druku: 21.05.2008

Abstract

Aim: 1) We have presented our experiment conducted to detect anti-K antibodies from the Kell-system in pregnant women and their connection with potential destruction of foetal red cells, which may result in haemolytic disease of the foetus and the newborn (HDFN).

2) We have also indicated serological and molecular methods important for a proper diagnosis.

Material and methods: 27 women with anti-K. Serological diagnosis of K antigen in fathers and children. KEL1 gene examination in fetuses from DNA isolated from foetal cells contained in amniotic fluid, using discrimination of alleles - real-time PCR method.

Results: Anti-K were detected in most women after blood transfusion, the fathers were usually K negative. Foetomaternal incompatibility was found in 6 out of 27 women. Haemolytic disease was observed in 5 cases: 3-severe, 1-fatal, 1-mild. Foetal genotyping allowed us to avoid cordocentesis in two pregnant women, it appeared that both foetuses have not received KEL1 gene from heterozygous (Kk) fathers – in the previous pregnancies the children had died because of HDFN.

Conclusions: 1) In every pregnant woman with anti-K, the K antigen should be examined in the father.

2) In every K+ father the phenotype should be evaluated and if he is heterozygote (Kk), the fetal KEL1 gene must be examined, to avoid unnecessary cordocentesis.

3) If KEL1 gene is not detected in the foetus, HDFN will not occur. 4) Foetal KEL1 genotyping may be performed in all mothers with anti-K and heterozygous father in our Department, after providing the material from the amniocentesis.

Key words: **alloantibodies-anti-K- pregnancy / fetomaternal incompatibility / haemolytic disease of fetus/newborn / fetal KEL1 genotyping /**

Wstęp

Rozpoznawanie konfliktu matczyno-płodowego w zakresie antygenu K z układu Kell jest bardzo ważne, ponieważ wynikająca z niego choroba hemolityczna płodu i noworodka (ChHPN) często ma przebieg ciężki i nierzadko kończy się śmiercią płodu lub noworodka [1, 2, 3].

Jest ona uważana za najczęstszą postać ChHPN powodowaną przeciwciałami innymi niż D z układu Rh [1]. Należy podkreślić, że w odróżnieniu od tej ostatniej nie ma możliwości jej zapobiegania poprzez stosowanie immunoprofilaktyki.

ChHPN spowodowana przeciwciałami anti-K jest w Polsce rozpoznawana zbyt rzadko lub za późno, a postępowanie u ciężarnych nie zawsze jest prawidłowe. Wynika to z kilku przyczyn, m.in.:

1. zaniedbań przez ginekologów zlecenia obowiązkowych badań przeciwciał przeciw-erytrocytarnych u wszystkich ciężarnych (a nie tylko u RhD ujemnych) [3, 4],
2. niedostatecznej wiedzy, że ciężarna mogła wytworzyć alloprzeciwciała podczas transfuzji, a nie w wyniku ciąży,
3. braku dostatecznych informacji dla ginekologów o nowoczesnej diagnostyce dla oceny czy wykrywane u ciężarnej anty-K są groźne dla płodu.

Cel pracy

Celem pracy jest przedstawienie kobiet ciężarnych z przeciwciałami anti-K oraz ich związku z występowaniem konfliktu matczyno-płodowego oraz ChHPN. Wiadomo, że wykrycie przeciwciał anti-K nie jest równoważne z dalszymi następstwami w czasie ciąży, ale dane na ten temat są w Polsce bardzo rzadko publikowane. Ponadto, celem pracy jest wskazanie konieczności diagnostyki metodami serologicznymi oraz metodami molekularnymi, pozwalającymi na identyfikację genu kodującego antygen K u płodu.

Materiał i metody

W latach 2002-2006 zgłoszono do naszego zakładu 27 kobiet ciężarnych z wykrytymi alloprzeciwciałami anti-K z układu Kell. Identyfikację przeciwciał u matek, fenotypy układu Kell u matek, ojców i noworodków oraz badania w kierunku ChHPN wykonywano rutynowo stosowanymi metodami serologicznymi [4, 5].

Od 2006r. wprowadzono badanie genu kodującego antygen K płodów z DNA izolowanego z amniocytów kobiet ciężarnych metodą dyskryminacji alleli przy użyciu *real-time* PCR [6, 7].

Wyniki

Analiza obejmuje 27 kobiet ciężarnych, u których wykryto alloprzeciwciała anti-K z układu Kell. Podzielono je na 3 grupy.

Grupa 1. Kobiety ciężarne z przeciwciałami anti-K, ale bez konfliktu matczyno-płodowego. (Tabela I).

U 19 spośród 27 ciężarnych mimo obecności przeciwciał nie było konfliktu matczyno-płodowego, a więc i choroby hemolitycznej płodu/novorodka. Miano przeciwciał u kobiet było bardzo zróżnicowane: u 4 było stosunkowo niskie (<16), u 11 – wysokie (16-126) i u 4 – bardzo wysokie (256-1024).

Dalsze badania wykazały, że w 16 przypadkach ojciec dziecka był K ujemny (tzn. był homozygotą kk), jeden ojciec okazał się heterozygotą (Kk), w dwóch przypadkach ojcowie nie byli osiągalni dla oznaczenia fenotypu Kell (tzn. nie było wiadomo czy ojcowie byli heterozygotami Kk, homozygotami KK, czy homozygotami kk (w tym ostatnim przypadku byłoby K ujemni).

Wnikliwy wywiad u kobiet ciężarnych wykazał, że 13 spośród 19 kobiet z anti-K otrzymało w przeszłości przetaczania krwi (prawdopodobnie K dodatniej), u pozostałych nie było takiej pewności, ale transfuzji nie można było wykluczyć.

Przeciwciała anti-K u kobiet ciężarnych oraz badania genu kodującego antygen K u płodów.

Table I. Związek przeciwciał anti-K z konfliktem matczyno-płodowym i z ChHPN u 27 kobiet.

Grupa kobiet	Liczba kobiet	Konflikt matczyno-płodowy	ChHPN	Oznaczony gen K u płodu
1	19	nie*	nie	nie
2	6	tak	tak**	nie
3	2	nie***	nie***	tak K ujemny

* u 16 ciężarnych ojcowie dzieci K (ujemnych), u 3 ciężarnych podejrzenie konfliktu, który wykluczono po kordocentezie

** u jednej ciężarnej za ChHPN były odpowiedzialne anti-D, a nie anti-K (szczegóły przy omówieniu Grupy 2)

*** konflikt i ChHPN w poprzednich ciążach

U 3 z 19 kobiet z alloprzeciwciałami anti-K o wysokim mianie i negatywnym wywiadzie transfuzjologicznym wykonano kordocentezę - dotyczyło to wspomnianych wyżej przypadków (u 1 ciężarnej z partnerem Kk oraz u 2 z partnerami niedostępnymi dla zbadania ich fenotypu). U wszystkich 3 płodów nie wykryto antygenu K (metodami serologicznymi) w krwi pobranej podczas kordocentezy. Pozwoliło to na wykluczenie konfliktu matczyno-płodowego w aktualnej ciąży. W tym czasie genotypowanie antygenu K w Polsce jeszcze nie było wprowadzone.

Grupa 2. Kobiety ciężarne z przeciwciałami anti-K i konfliktem matczyno-płodowym. (Tabela II).

Do tej grupy zakwalifikowano 6 kobiet z przeciwciałami anti-K, wśród nich u 5 dzieci wystąpiła ChHPN spowodowana przeciwciałami anti-K: w 1 przypadku zakończyła się urodzeniem martwego płodu, w 3 przypadkach była ciężka (transfuzje dopłodowe i uzupełniające po porodzie), w 1 była łagodna. Ponadto, obserwowano 1 ciężarną z przeciwciałami anti-K oraz anti-D, ale po porodzie okazało się że ChHPN spowodowana była przeciwciałami anti-D, dlatego przypadek ten nie został umieszczony w tabeli II (szczegóły poniżej).

Table II. Choroba hemolityczna płodów i noworodków spowodowana przez anti-K.

Przypadek nr	Matka		Ojciec	ChHPN	Dziecko		
	Ciąża	Miano anty-K			Fenotyp Kell	Transfuzje	
						dopłodowe	noworodek
1	Druga	1024	Kk	martwy płód	-	-	
2	Druga	2000	KK	ciężka	tak (liczba nieznana)	uzupełniająca	
3	Trzecia	256	Kk	ciężka	9 x	uzupełniająca	
4	Trzecia	2000	n.b.	ciężka	1x	uzupełniająca	
5	Druga	8	n.b.	łagodna	nie	nie	

Niektóre przypadki wymagają komentarza:

a) Kobieta nr 1: Ciąża druga – nie wykonano badań przeciwciał do krwinek czerwonych, urodziło się martwe dziecko. Dopiero po porodzie wykryto u matki alloprzeciwciała anti-K o mianie 1024, a badanie fenotypu Kell ojca wykazało, że jest on heterozygotą (Kk); prawdopodobnie płód w ciąży drugiej odziedziczył antygen K (badań u dziecka nie było).

W kolejnej, trzeciej ciąży (nie wykazanej w tabeli II), z uwagi na obciążający wywiad, obecność u ojca antygenu K oraz bardzo wysokie miano anti-K (8000) u matki – wykonano kordocentezę. Płód okazał się K ujemny (na podstawie metod serologicznych) – odziedziczył on od ojca antygen k, wobec tego nie stwierdzono konfliktu matczyno-płodowego.

b) Kobieta nr 5: W ciąży drugiej wykonano trzykrotnie kordocentezę z uwagi na obciążający wywiad (pierwsza ciąża - miano anti-K 32, martwy płód).

Metodami serologicznymi wykryto antygen K u płodu. Płód i noworodek nie wymagały transfuzji, ale ChHPN była udowodniona.

c) U kobiety (nie wymienionej w tabeli II, a wspomnianej powyżej) w trzeciej ciąży wykryto przeciwciała anti-K (miano 8) i anti-D (miano 512).

Wykonano kordocentezę i u płodu wykryto zarówno antygen K jak i D metodami serologicznymi. Dalsza obserwacja przypadku sugerowała, że ChHPN spowodowana była przeciwciałami anti-D (kolejne miano 2000), a nie anti-K (kolejne miano 1).

U noworodka nie wykryto antygenu K, ale wykryto antygen D, co potwierdziło, że ChHPN spowodowana była przeciwciałami anti-D. Oznaczenie antygenu K we krwi pobranej podczas kordocentezy okazało się więc błędne, wobec tego w aktualnej ciąży nie było konfliktu matczyno-płodowego w zakresie tego antygenu.

d) Dodatkowych komentarzy wymagają dwa fakty:

1) w dwóch przypadkach zawartych w tabeli II (nr 4 i 5) ojcowie nie byli skierowani na oznaczenie fenotypu Kell, co utrudniało analizę kliniczną,

2) u trzech kobiet kordocentezy były uzasadnione, ponieważ w Polsce w tym czasie nie oznaczaliśmy jeszcze genu KEL1 płodów metodą PCR.

Grupa 3. Kobiety ciężarne z przeciwciałami anti-K i z obciążającym wywiadem, które uniknęły kordocentezy dzięki oznaczeniu genu KEL1 u płodu. (Tabela I).

Podczas badań przesiewowych u 2 kobiet, w drugiej i w czwartej ciąży, wykryto przeciwciała anti-K (miano 512), obie straciły dzieci w poprzedniej ciąży z powodu ChHPN (szczegółów brak).

Badania fenotypu u obu ojców wykazały, że byli oni heterozygotami Kk. W obu przypadkach nie wykryto genu *KEL1* u płodu w amniocytach pobieranych od matek. Tak więc, u obu kobiet w aktualnej ciąży nie wystąpił konflikt matczyno-płodowy, ponieważ tym razem ojcowie przekazali dzieciom antygen k, a nie, jak prawdopodobnie w poprzedniej ciąży, antygen K.

Dyskusja

Z naszej analizy alloprzeciwciał anty-K u ciężarnych wynika kilka ważnych obserwacji:

1. u większości kobiet (19/27) przeciwciałom nie towarzyszył konflikt matczyno-płodowy,
2. ChHPN występowała rzadko (6/27), ale w jednym przypadku okazało się po porodzie, że spowodowana była przeciwciałami anty-D, a nie anty-K),
3. przeciwciała anty-K obserwowano często po przetaczaniu krwi w przeszłości, a nie po ciąży (u 13 kobiet – transfuzje udowodnione).

Brak konfliktu matczyno-płodowego przy obecności przeciwciał anty-K wynika z faktu, że około 90% ludzi w naszej populacji nie ma antygenu K (K ujemni czyli homozygoty kk). Osoby K dodatnie (ok. 9%) [1] mogą być homozygotą KK albo heterozygotą Kk.

Jeśli ojciec jest homozygotą KK to płód zawsze odziedziczy antygen K i zawsze wystąpi konflikt matczyno-płodowy. Natomiast, jeśli ojciec jest heterozygotą Kk, to dziecko będzie tylko zagrożone konfliktem przy odziedziczeniu antygenu K, ale nie przy odziedziczeniu antygenu k. Wobec tego u każdej ciężarnej z anty-K trzeba oznaczyć fenotyp K u ojca, a jeśli ojciec jest heterozygotą (Kk) należy koniecznie zbadać gen *KEL1* u płodu.

W ostatnim czasie nasz zakład opracował badanie genu kodującego antygen K (allel *KEL1*) z DNA izolowanego z amniocytów pobranych od matki i metoda ta jest dostępna dla wszystkich potrzebujących przypadków [6]. Jest to metoda inwazyjna, ale znacznie bezpieczniejsza niż kordocenteza. Należy podkreślić, że opracowanie metody nieinwazyjnej (opartej na badaniu osocza matki) w celu badania genu *KEL1* sprawiało badaczom długo kłopoty. Dopiero pod koniec 2007r. opublikowano taką metodę, ale i tak obserwowano jeden wynik fałszywie ujemny na 27 osób badanych [8].

Mamy nadzieję, że w niedługim czasie nieinwazyjna metoda oznaczania genu kodującego antygen K będzie w naszym zakładzie opracowana, ponieważ wstępne prace rozpoczęto. Należy podkreślić, że mamy duże doświadczenie w opracowaniu metody nieinwazyjnej ponieważ wprowadziliśmy ją w 2005 r. dla genu D, a ostatnio dla genu c z układu Rh [9, 10].

W przypadkach obserwowanych przed 2006 r. antygen K badano w Polsce metodą serologiczną we krwi pobranej podczas, uzasadnionej sytuacją, kordocentezy, bo nikt w naszym kraju nie wykonywał jeszcze genotypowania *KEL1*. W obecnej pracy znajdują się jednak 2 kobiety (z przeciwciałami anty-K i ojcami Kk), u których w 2006 r., po raz pierwszy wykonano oznaczenie genu *KEL1* u płodu. Dla obu kobiet informacja, że nie wykryto genu *KEL1* była bardzo istotna; od tego momentu wiedziały, że płodowi z obecnej ciąży nie zagraża ChHPN, z powodu której straciły poprzednie dzieci. W 2007 r. gen kodujący antygen K oznaczono u kolejnych dwóch kobiet, ale przypadki te nie zostały włączone do obecnej pracy, ponieważ zawiera ona obserwacje z lat 2001-2006.

Komentarza wymaga częsta obecność alloprzeciwciał anty-K u kobiet ciężarnych z powodu przetaczania krwi. Od kilku lat obowiązuje w Polsce przepis, że wszystkie dziewczynki i kobiety K (ujemne) w wieku rozrodczym jeśli muszą otrzymać krew, to powinny mieć przetoczoną krew K (ujemną),

żeby uniknąć alloimmunizacji poprzetoczeniowej, która w przyszłości może zagrozić płodowi ChHPN, jeśli będzie on K (dodatni) [4].

Jednak, obserwowane przez nas ciężarne, otrzymały prawdopodobnie transfuzję przed wprowadzeniem wyżej wymienionego przepisu i dlatego wytworzyły anty-K. Pozostaje nadzieja, że alloimmunizacja poprzetoczeniowa antygenem K będzie występowała coraz rzadziej.

Wiadomo, że ChHPN występuje rzadziej niż przeciwciała anty-K. Ostateczne proporcje nie są znane. W obecnej pracy obserwowaliśmy ją u około 18,5% kobiet z przeciwciałami, podczas gdy Daniels cytuję 38% [1]. Różnica ta może wynikać z wcześniejszego wprowadzenia w Europie Zachodniej zapobiegania immunizacji poprzetoczeniowej poprzez podawanie kobietom krwi K (ujemnej). Należy podkreślić, że ChHPN powodowana przeciwciałami anty-K często ma przebieg ciężki, a nawet kończy się utratą dziecka. W obserwowanych obecnie pięciu przypadkach, ChHPN była śmiertelna u jednego dziecka i ciężka w 3 przypadkach, analogicznie do naszych poprzednich analiz (lata 1996-2000) [2].

Jedną z najważniejszych przyczyn ciężkiego przebiegu ChHPN jest niszczenie przez przeciwciała anty-K nie tylko erytrocytów płodu, ale i ich prekursorów, czyli różnych postaci erytroblastów. Antygen K pojawia się na erytroblastach płodu bardzo wcześnie w trakcie jego rozwoju, najwcześniej spośród innych antygenów krwinek czerwonych [11]. Supresja erytropoezy często prowadzi do bardzo nasilonej niedokrwistości, nieproporcjonalnej do stężenia przeciwciał u matki, dlatego miano przeciwciał u matki nie zawsze jest miarodajne w prognozowaniu ciężkości ChHPN. Ponadto obserwuje się stosunkowo niższe, niż w innych postaciach ChHPN, stężenie bilirubiny w płynie owodniowym, a u noworodka również niższą retikulocytozę i erytroblastozę [1, 12]. Dlatego więc w ocenie niedokrwistości u płodu w konflikcie z przeciwciałami anty-K, szczególnie pomocne może być nieinwazyjne badanie za pomocą ultrasonografii Dopplera.

Na zakończenie warto podkreślić, że dla usprawnienia współpracy ginekologów z diagnostami genotypującymi antygen K płodu, konieczne jest przed pobraniem i przesyłaniem amniocytów skontaktowanie się (telefoniczne – 22 8493651 wew. 144 lub e-mailem orzinska@ihit.waw.pl) z Pracownią Biologii Molekularnej naszego zakładu dla ustaleniu terminu badania i szczegółów dotyczących przesyłania materiału.

Wnioski

1. Alloprzeciwciała anty-K z układu Kell występują znacznie częściej niż konflikt matczyno-płodowy i ChHPN spowodowane tymi przeciwciałami.
2. Przeciwciała anty-K są często następstwem przetaczania krwi w przeszłości, a nie ciąży.
3. U każdej kobiety ciężarnej z anty-K należy określić czy ojciec dziecka jest K ujemny (kk) czy K dodatni, a u ojca K (dodatniego) należy zbadać czy jest on homozygotą (KK) czy heterozygotą (Kk).
4. Genotypowanie antygenu K u płodu, po pobraniu materiału przez ginekologa, powinno być wykonane u każdej ciężarnej z przeciwciałami anty-K i heterozygotycznym (Kk) ojcem.

Przeciwciała anti-K u kobiet ciężarnych oraz badania genu kodującego antygen K u płodów.

Podziękowania

Autorzy składają podziękowania pracownikom Regionalnych Centrów Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa za udostępnienie niektórych danych u kobiet ciężarnych.

Praca wykonana została w ramach grantu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (nr 2P05E0219)

Piśmiennictwo

1. Daniels G. Human Blood Groups. Oxford: Blackwell Science, 2002, 300.
2. Lenkiewicz B, Żupańska B. Znaczenie przeciwciał innych niż anti-D w chorobie hemolitycznej płodów i noworodków. *Ginekol Pol.* 2003, 74, 48-54.
3. Żupańska B. Konflikt matczyno-płodowy w zakresie antygenów innych niż RhD. W: Profilaktyka w położnictwie, ginekologii i neonatologii. Red. Słomko Z, Drews K, Niemiec T. Poznań: Polskie Towarzystwo Ginekologiczne, 2005, 243.
4. Seyfriedowa H, Kuśnierz-Alejska G, Michalewska B. Immunologia transfuzjologiczna krwinek czerwonych. W: Medyczne zasady pobierania krwi, oddzielania jej składników i wydawania, obowiązujące w jednostkach organizacyjnych publicznej służby krwi. Red. Łętowska M. Warszawa: Instytut Hematologii i Transfuzjologii, 2006, 1-99.
5. British Committee for Standards in Haematology Blood. Transfusion Task Force. Gooch A, Parker J, Wray J, [et al.]. Guideline for blood grouping and antibody testing in pregnancy. *Transfus Med.* 2007, 17, 252-262.
6. Orzińska A, Guz K, Wielgoś M, [i wsp.]. Standaryzacja metody genotypowania antygenów krwinek czerwonych płodu w konfliktach „nie anti-D”. *Acta Haem Pol.* 2007, 38, supl. 2, 99-100.
7. Faas BW, Maaskant-Van Wijk P, von dem Borne A, [et al.]. The applicability of different PCR-based methods for fetal RHD and K1 genotyping: a prospective study. *Prenat Diagn.* 2000, 20, 452-458.
8. Finning K, Martin P, Summers J, [et al.]. Fetal genotyping for the K (Kell) and Rh C,c, and E blood groups on cell-free fetal DNA in maternal plasma. *Transfusion.* 2007, 47, 2126-2133.
9. Brojer E, Żupańska B, Guz K, [et al.]. Noninvasive determination of fetal RHD status by examination of cell-free DNA in maternal plasma. *Transfusion.* 2005, 45, 1473-1480.
10. Orzińska A, Guz K, Brojer E, [et al.]. Preliminary results of fetal Rhc examination in plasma of pregnant women with anti-c. *Prenatal Diagn.* 2008, 28, 335-337.
11. Vaughan J, Warwick R, Letsky E, [et al.]. Erythropoietic suppression in fetal anemia because of Kell alloimmunization. *Am J Obstet Gynec.* 1994, 171, 247-252.
12. 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, 13-15.