

Aspekty transfuzjologiczne w świetle wykładów 54. Kongresu *American Society of Hematology (ASH)*

Atlanta, 8–11 grudnia 2012 roku

Magdalena Łętowska

Instytut Hematologii i Transfuzjologii

Mikroangiopatie zakrzepowo-zatorowe

W ostatnich latach nastąpił znaczny postęp w rozpoznawaniu i leczeniu mikroangiopatii zakrzepowo-zatorowych. W czasie ostatniego Kongresu ASH tej grupie chorych poświęcono sesję edukacyjną oraz wiele prezentacji ustnych i plakatowych.

Mikroangiopatie zakrzepowo-zatorowe należą do grupy chorób, które występują bardzo rzadko i charakteryzują się następującymi objawami: małopłytkowość, niedokrwistość hemolityczna z obecnymi schistocytami w rozmazie krwi obwodowej, objawy neurologiczne, objawy niewydolności nerek oraz gorączka. Wśród mikroangiopatii zakrzepowo-zatorowych wyróżniamy zespół hemolityczno-mocznicowy (HUS, *haemolytic-uremic syndrome*) i płamicę zakrzepową małopłytkową.

Zespół hemolityczno-mocznicowy

W HUS zmiany naczyniowe dotyczą przede wszystkim nerek, ale mikrozakrzepy mogą być także obecne w naczyniach mózgu, serca, płuc i przewodu pokarmowego [1]. Wśród zespołów hemolityczno-mocznicowych wyróżnia się:

1. Typowy HUS w 90–95% dotyczy dzieci i charakteryzuje się niewydolnością nerek poprzedzoną krwotoczną biegunką, wywołaną przez toksynę Shiga wytwarzaną przez *Escherichia coli* serotyp *O157:H7* lub serotyp *O104:H4* albo *Shigella*.
2. Atypowy HUS (aHUS) dotyczy 5–10% wszystkich dzieci z HUS, u których objawy niewydolności nerek nie są poprzedzone krwotoczną biegunką; u około 10% dzieci z aHUS choroba występuje także u wielu członków rodzin i spowodowana jest wrodzonymi zaburzeniami alternatywnej drogi układu dopełniacza.

3. Wtórny HUS może wystąpić w przebiegu ciąży i wówczas nosi nazwę zespołu HELLP (*Haemolytic anemia, Elevated Liver enzymes, Low Platelet count*); ciężkie powikłanie zespołu przedrzucawkowego lub rzucawki (10–20%), występuje w przebiegu 0,5–0,9% wszystkich ciąż u kobiet rasy białej powyżej 25. roku życia; sepsy, zespołu DIC (*disseminated intravascular coagulation*), chorób autoimmunologicznych, nowotworów złośliwych, nadciśnienia złośliwego, zakażenia bakterią *Streptococcus pneumoniae*, po przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych, czy też może wystąpić u osób przyjmujących niektóre leki.
4. Idiopatyczny HUS, dawniej stanowił 50% wszystkich HUS, obecnie, po wprowadzeniu badań genetycznych wykrywających mutacje genów kodujących składniki alternatywnej drogi układu dopełniacza, należy do najrzadziej występujących postaci HUS.

Płamica zakrzepowa małopłytkowa

Płamica zakrzepowa małopłytkowa (TTP, *thrombotic thrombocytopenic purpura*) zwana także zespołem Moschcowitza. W 1924 roku amerykański patolog Eli Moschcowitz, jako pierwszy opisał u 16-letniej dziewczynki chorobę charakteryzującą się współistnieniem 5 objawów: małopłytkowości, niedokrwistości hemolitycznej, nietypowych i zmiennych objawów neurologicznych, gorączki oraz objawów niewydolności nerek [2]. Ten znakomity lekarz i naukowiec również jako pierwszy opisał reakcję eozynofilową w przebiegu alergii, a w tym samym roku, wspólnie z Abrahamem Wilenskim, opisał odgraniczone zmiany ziarniakowe w jelicie cienkim, co przypuszczalnie jest jednym z pierwszych opisów choroby Crohna.

Plamica zakrzepowa małopłytkowa może mieć charakter wrodzony — zespół Upshaw-Schulmana (< 1% wszystkich chorych z TTP) albo nabyty (aTTP, *acquired TTP*), dotyczący ponad 99% wszystkich pacjentów z TTP [3]. Wśród postaci nabytych wyróżnia się postać idiopatyczną TTP (~ 60% wszystkich chorych) i wtórną TTP (ok. 40% chorych).

Zespół Upshaw-Schulmana (USS)

Przyczyną powstania tej choroby jest mutacja w genie proteazy *ADAMTS13*, enzymu należącego do rodziny metaloproteaz, tnącego multimetry czynnika von Willebranda (AWF, *von Willebrand factor*). Zmniejszenie lub brak aktywności tego enzymu prowadzi do obecności w osoczu wielkocząsteczkowych multimetrów vWF, które, wiążąc się z glikoproteinami płytek, tworzą agregaty płytkowe czopujące drobne naczynia krwionośne. Dotychczas wykryto ponad 140 mutacji w tym genie: 60% typu *missens*, 20% stanowiły małe delecje i insercje, mutacje nonsense i mutacje w miejscu splicingu. U chorych tych występuje ciężki niedobór *ADAMTS13* (aktywność 5–10%). Na świecie zarejestrowanych jest około 150 pacjentów; u 50% pierwszy atak choroby występuje w pierwszych latach życia, natomiast u pozostałych 50% — zwykle między 20. i 40. rż. Zapobieganie atakom choroby polega na przetaczaniu świeżo mrożonego osocza w odstępach 2–3-tygodniowych [4–6]. W ostatnich latach prowadzone są prace nad rekombinowanym ludzkim *ADAMTS13*, który ma znaleźć zastosowanie w leczeniu chorych z USS. Jest to białko o cc 173kDa, produkowane przez komórki jajnika chomika chińskiego, poddane dwustopniowej inaktywacji wirusów, sekwencja AA wykazuje 98% homologii z sekwencją ludzkiego osoczowego *ADAMTS13*. W procesie produkcyjnym nie stosuje się białek pochodzenia zwierzęcego i ludzkiego. W jego cząsteczce wprowadzono następujące modyfikacje potranslacyjne: 7 miejsc O-glikozylacji i N-glikozylacji, O-fukozylacji, C-mannozyłacji. Badania przedkliniczne i kliniczne serii leku wykazały 100% zgodność we wszystkich wykonanych testach [7]. Rottensteiner i wsp. dokonali oceny degradacji multimetrów AWF poprzez badanie zdolności wiązania kolagenu przez vWF i aktywność kofaktora ristocetyny oraz analizę multimetrów. Autorzy potwierdzili aktywność proteolityczną r*ADAMTS13* [8].

Idiopatyczna TTP

Spowodowana jest wiązaniem *ADAMTS13* przez autoprzeciwciała klasy IgG, głównie IgG4. U 10–15% pacjentów przeciwciała te mają charakter przeciwciał niewiążących. Stwierdzono genetyczną predyspozycję do powstawania pa-

tologicznych przeciwciał związaną z obecnością HLA DRB1*11; opisano wystąpienie przeciwciał u dwóch jednojajowych bliźniaczek. Ponadto stwierdzono, że 11% pacjentów z nabytą TTP jest heterozygotycznymi nosicielami zmutowanego genu. Uważa się, że pewną rolę w powstawaniu autoprzeciwciał odgrywają limfocyty Th. Choroba występuje z częstością 4,5/mln natomiast postać ciężka (aktywność *ADAMTS13* < 10%) występuje z częstością 1,72/mln. W tej postaci choroby u 94–97% pacjentów stwierdza się aktywność *ADAMTS13* < 10%, u około 80% pacjentów obniżenie aktywności *ADAMTS13* < 5%, zaś inhibitor wykrywa się u 44–56% pacjentów. Leczeniem z wyboru jest wykonywanie zabiegów leczniczej wymiany osocza (TPE, *therapeutic plasma exchange*). Leczeniem wspomagającym jest stosowanie kortykosteroidów, leków immunosupresyjnych: cyklofosfamidu, azatiopryny, winkrystyny. Obecnie u chorych opornych na leczenie stosowany jest rytuksymab [3].

Wtórna TTP

Wtórna TTP stanowi 40% wszystkich przypadków nabytej TTP. Może wystąpić w przebiegu chorób nowotworowych, infekcji HIV (*human immunodeficiency virus*), zakażeń bakteryjnych, chorób autoimmunologicznych, nocnej napadowej hemoglobinurii, ciąży, u chorych po przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych, u chorych przyjmujących niektóre leki, między innymi leki antyagregacyjne, immunosupresyjne, chininę czy statyny. Mechanizm powstawania choroby nie jest do końca poznany. W tej grupie chorych stwierdza się obniżenie aktywności *ADAMTS13* chociaż nie tak znaczne jak w idiopatycznej postaci TTP, a inhibitor może być nie wykrywany. Prawdopodobnie w etiologii tej postaci TTP, w części przypadków, odgrywa rolę uszkodzenie śródbłonna naczyniowego [3].

Ze względu na rzadkość występowania TTP na świecie rejestry przypadków tej choroby prowadzone są lokalnie i jest ich niewiele. Najbardziej znany jest Oklahoma TTP-HUS Registry założony w 1989 roku, w którym do 2011 roku zarejestrowano 427 pacjentów [3]. Aktywność *ADAMTS13* zaczęto oznaczać od 1995 roku i badaniom poddano próbki pobrane od 311 pacjentów. Stwierdzono aktywność *ADAMTS13* < 10% u 70 (23%) chorych, w tym 56 kobiet i 14 mężczyzn (śr. wieku 40, 9–71 lat). Po rozpoczęciu leczenia za pomocą TPE (n = 302) uzyskano znakomity efekt kliniczny i wzrost przeżycia w tej grupie chorych z 10% do 78%. Stosowanie TPE wiązało się z wystąpieniem powikłań

u 72 (24%) pacjentów. Rytuksymab stosowano u 10 chorych z grupy 70, z aktywnością ADAMTS13 < 10%. W analizowanej grupie chorych obserwowano znaczny stopień ryzyka nawrotu w ciągu 7,5 roku wynoszący 43% [5].

Nabyta postać TTP bardzo rzadko występuje u dzieci. Muthurajah i wsp. dokonali przeglądu piśmiennictwa, które ukazało się w latach 1996–2012 i w 22 publikacjach znaleźli opisy 53 dzieci z aTTP [9]. W tym samym okresie w Oklahoma TTP-HUS Registry zarejestrowano tylko jeden przypadek aTTP u dziecka. Na tej podstawie autorzy obliczyli, że zapadalność na aTTP u dzieci wynosi $0,10/10^6$ /rok, a u wszystkich pacjentów w ciężkim niedoborem ADAMTS13 zapadalność na aTTP wynosi $1,74/10^6$ /rok.

W Korei rejestr pacjentów z TTP prowadzony jest od 2005 roku. Do końca 2012 roku zarejestrowano w nim 131 pacjentów, z których 82% odpowiedziało na leczenie, remisję obserwowano u 70% chorych, a śmiertelność wynosiła 23% w grupie pacjentów z aktywnością ADAMTS13 < 10% [10].

W rejestrze prowadzonym w szpitalu klinicznym Uniwersytetu Wschodniej Karoliny w latach 2001–2012 zarejestrowano 101 pacjentów. Płamica zakrzepowa małopłytkowa występowała częściej u kobiet i pacjentów rasy czarnej, z czego 80 pacjentów miało samoistną TTP zaś 21 — wtórną postać choroby [11].

Chaturvedi i wsp. poddali analizie dane 100 pacjentów zarejestrowanych w latach 2000–2012 w rejestrze Cleveland Clinic. Za niekorzystne czynniki prognostyczne autorzy, uznali: wiek > 60 lat, ciężkie objawy neurologiczne przy przyjęciu i utrzymujące się wysokie stężenie LDH mimo wdrożenia leczenia TPE [12].

Aferenza. Lecznicza wymiana osocza

Słowo „aferenza” wywodzi się z języka greckiego, składa się z dwóch wyrazów: „apo” czyli w przybliżeniu „od” i „hairesis” czyli zabieranie, całość oznacza więc usunięcie czegoś lub rozdzielanie. Zabiegi aferazy stosowane są u dawców, w celu otrzymania określonego składnika krwi i u chorych, którym w celach leczniczych należy usunąć określony składnik krwi. W przypadku usuwania składników komórkowych krwi mówi się o cytaferizie, a jeśli zabieg dotyczy usunięcia określonej objętości osocza bez przetaczania płynu zastępczego mówimy o plazmaferezie. Jeśli natomiast zabieg polega na usunięciu dużej objętości osocza (zazwyczaj 1–1,5 całkowitej jego objętości z zastosowaniem płynu zastępczego) mówimy

o leczniczej wymianie osocza. Szczególnym rodzajem plazmaferezy jest selektywna aferza na przykład LDL (lipoproteina niskiej gęstości [*low density lipoprotein*]), gdzie podczas zabiegu dochodzi do oczyszczenia osocza z LDL. Wytyczne dotyczące stosowania leczniczej aferazy w różnych stanach klinicznych opracowano na podstawie rekomendacji organizacji eksperckich, podlegających okresowej aktualizacji przy uwzględnieniu najnowszych wyników badań klinicznych i aktualnego stanu wiedzy [13]. Obecnie najczęściej stosowane są wytyczne *American Society for Apheresis* (ASFA), publikowane co 3 lata w *Journal of Clinical Apheresis* (ostatnia publikacja w 2010 roku). Zgodnie z tymi wytycznymi wskazania do stosowania aferazy podzielone są na IV kategorie. Do Kategorii I zaliczone są takie choroby, w których aferza stosowana jest jako terapia pierwszego rzutu, samodzielnie lub w połączeniu z innymi metodami leczenia. W chorobach umieszczonych w Kategorii II aferza jest terapią drugiego rzutu, stosowana samodzielnie lub w połączeniu z innymi metodami leczenia, zaś w Kategorii III — optymalne zastosowania aferazy nie są ustalone a decyzje należy podejmować indywidualnie. W chorobach umieszczonych w Kategorii IV opublikowano dowody świadczące o braku skuteczności lub wręcz szkodliwości aferazy. Do chorób zaliczanych do Kategorii I z siłą zaleceń 1A należą przede wszystkim: hipercholesterolemia rodzinna, ostra zapalna poliradikuloneuropatia demielinizacyjna (zespół Guillaina i Barrégo) i TTP, zaś z siłą zaleceń 1B między innymi: poliradikuloneuropatia przewlekła zapalna demielinizacyjna, zespół nadmiernej lepkości i polineuropatie w gammapatiach monoklonalnych, hiperleukocytoza, krieglobulinemia, chłoniak skórny T-komórkowy; ziarniniak grzybiasty; zespół Sézary’ego, niedokrwistość sierpowato krwinkowa [13].

Wpływ czasu przechowywania KKCz na czas przeżycia chorych z rakiem

Kekre i wsp. poddali analizie chorych z rakiem, leczonych w *Ottawa Regional Cancer Center* w latach 2000–2005; z grupy 27 591 wszystkich pacjentów wyodrębniono badaną grupę stanowiącą 1929 (7%) osób, którym w ciągu pierwszego roku od rozpoznania przetoczono średnio 3,42 jednostek KKCz (koncentrat krwinek czerwonych), z czego u 1335 (69,2%) chorych przetaczano jedną kategorię KKCz. Koncentraty krwinek czerwonych podzielono na 3 kategorie w zależności od terminu ważności: „świeży KKCz” < 14 dni; „pośredni KKCz” 14–28 dni i „stary KKCz” > 28. W wyni-

ku przeprowadzonej analizy autorzy stwierdzili, że czas przechowywania KKCz nie miał wpływu na ogólny czas przeżycia chorych z rakiem. W analizie wielowariantowej krótszy czas przeżycia charakteryzował grupę chorych z rakiem płuc, leczonych chemioterapią/radioterapią, poddanych zabiegowi chirurgicznemu, u których wystąpił nawrót choroby. W analizie wielowariantowej ani liczba przetoczonych jednostek KKCz, ani czas przechowywania KKCz nie miały wpływu na czas przeżycia chorych z rakiem [14].

Czy profilaktyczne przetaczanie KKP jest korzystniejsze od leczniczego u pacjentów z chorobami onkohematologicznymi i głęboką małopłytkowością? Wyniki badania TOPPS

W związku z tym, że nadal niejasno określone są korzyści wynikające z profilaktycznego przetaczania koncentratów krwinek płytkowych w zapobieganiu krwawieniom u pacjentów z nowotworami układu krwiotwórczego w Anglii i Australii przeprowadzono randomizowane, otwarte badanie równoważności badanie TOPPS (*Transfusion Of Prophylactic Platelets*). Celem tego badania było sprawdzenie czy niezastosowanie profilaktycznego przetaczania koncentratów krwinek płytkowych — KKP (tj. przetaczanie tylko w przypadku krwawień, zabiegów, lub wynikające z ostrożności lekarza) jest równie skuteczne jak profilaktyczne stosowanie KKP w grupie pacjentów, u których liczba płytek zmniejsza się poniżej $10 \times 10^9/l$. Badaną grupę stanowiło 598 chorych (300 bez profilaktycznego przetaczania KKP, 298 z profilaktycznym przetaczaniem KKP), leczonych w 14 szpitalach Anglii i Australii. Pierwotny punkt końcowy stanowiła liczba pacjentów z klinicznie istotnym krwawieniem (wg WHO ≥ 2), które wystąpiło do 30 dni od randomizacji; margines równoważności definiowano jako 15% różnica w proporcji pacjentów, którzy osiągnęli pierwotny punkt końcowy. Pacjenci byli kwalifikowani do poszczególnych grup w systemie komputerowym: w grupie profilaktycznej przetaczano KKP gdy liczba płytek $< 10 \times 10^9/l$; w obu grupach przetaczano KKP gdy pojawiło się krwawienie, przed zabiegiem operacyjnym, a także wtedy, gdy lekarz decydował o przetoczeniu z własnej ostrożności. Okazało się, że te dwie metody postępowania nie są równoważne. U pacjentów, którym nie przetaczano profilaktycznie KKP, wystąpiło więcej krwawień według klasyfikacji WHO ≥ 2 (151/300 tj. 50%), krwawienia trwały dłużej i pierwsze krwawienie pojawiało się wcześniej. Należy jednak podkreślić, że u 43% pacjentów

(128/298), którym przetaczano profilaktycznie KKP także pojawiły się krwawienia [15, 16].

W jaki sposób można wyprodukować erytrocyty?

Od wielu lat, w różnych ośrodkach naukowych na świecie prowadzone były badania nad „sztuczną krwią”. Dotyczyły one syntetycznych nośników tlenu (preparaty związków perfluorokarbonowych [PFC]), roztworów hemoglobiny ludzkiej i zwierzęcej wolnej od zębów komórkowego oraz tzw. „sztucznych krwinek czerwonych” — nowej generacji preparatów krwiopochodnych zawierających hemoglobinę i niektóre enzymy — mikrokapsulek lipidowych (liposomów) lub nanokapsulek z polimerów podlegających biodegradacji. Badania te nie przyniosły do tej pory żadnych wymiernych korzyści, a pochłonęły ogromne pieniądze.

Od początku obecnego wieku naukowcy z ośrodków w Stanach Zjednoczonych, Francji i Japonii rozpoczęli badania nad możliwością produkowania erytrocytów na skalę przemysłową [17–19]. Jeden kierunek badań dotyczy otrzymywania *in vitro* erytrocytów z ludzkich krwiotwórczych komórek macierzystych (KKM), drugi — z ludzkich indukowanych komórek pluripotentnych (iPSC, *induced pluripotent stem cells*).

Zródłem KKM może być szpik kostny i krew pępowinowa (KP) oraz płodowa wątroba. Okazało się, że KKM pochodzące z płodowej wątroby poddają się ekspansji 100 razy lepiej niż KKM pochodzące z KP, ale dojrzewają w znacznie mniejszym stopniu. Stąd dalsze badania prowadzone są nad otrzymywaniem krwinek czerwonych z KP lub szpiku. Do tej pory w hodowlach otrzymano z 1 komórki CD34+ z krwi pełnej od $1,0$ do $2,5 \times 10^5$ erytrocytów, a z 1 komórki CD34+ pochodzącej ze szpiku — $2,5 \times 10^4$ erytrocytów. Naukowcy uważają, że z 1 j krwi pępowinowej można by teoretycznie otrzymać odpowiednio od 10 do 50 j KKCz. Niestety hodowlane erytrocyty nadal posiadają jądro i zawierają przede wszystkim embrionalną i płodową hemoglobinę.

Komórkę można przeprogramować, umieszczając jej jądra w komórce jajowej lub łącząc komórkę somatyczną z embrionalną komórką macierzystą. Ogromne znaczenie dla badań nad przeprogramowaniem komórek miały prace Briggsa, Kinga, a następnie Gurдона, którzy do oocytów żaby wszczepiali jądra z różnicujących się lub w pełni zróżnicowanych komórek. Badania te doprowadziły w efekcie do opracowania metod klonowania zwierząt. W 2006 roku Takahashi

i Yamanaka opublikowali wyniki doświadczeń, w których po raz pierwszy przekształcono komórkę asomatyczną — fibroblast, w komórkę pluripotentną/pluripotencjalną, tj. taką, z której może powstać każdy typ komórek, różniąc się do każdego z trzech listków zarodkowych [20]. Prace te dały początek wielu badaniom nad indukowanymi pluripotentnymi komórkami macierzystymi, które to badania w 2012 roku wyróżniono Nagrodą Nobla dla Shinyi Yamanaki i Johna Gurdon za prace dotyczące przeprogramowania komórek somatycznych.

Niestety, dostępność KP, tego najbardziej wydajnego źródła KKM do produkcji erytrocytów, jest ograniczona. Wydaje się, że proces technologiczny, w którym z iPSC produkowane będą erytrocyty, mógłby stanowić nieograniczone ich źródło. Jednak zanim będzie można wyprodukować erytrocyty w bioreaktorach, należy rozwiązać wiele zasadniczych problemów. Należą do nich przede wszystkim: wybór typu komórki wyjściowej, metody przeprogramowania (bezpieczeństwo i efekt kliniczny), optymalizacja metod różnicowania do stadium dojrzałego erytrocyta i określenie warunków GMP dla produkcji przemysłowej [19].

Piśmiennictwo

1. Nester C.M., Thomas C.P. Atypical hemolytic uremic syndrome: what is it, how is it diagnosed, and how is it treated? *ASH 2012 Education Book*: 617–625.
2. Moschowitz E. An acute febrile pleiochromic anemia, with hyaline thrombosis of the terminal arterioles and capillaries: An undescribed disease. *Arch. Int. Med.* 1925; 3: 89–93.
3. George J.N., Al-Nouri Z.L. Diagnostic and therapeutic challenges in the thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic uremic syndromes. *ASH 2012 Education Book*: 604–609.
4. Schulman I., Perce M., Lukens A., Currimbhoy Z. Studies on thrombopoiesis. I. Factor in normal human plasma required for platelet production; chronic thrombocytopenia due to its deficiency. *Blood* 1960, 16; 943–957.
5. Upshaw J. Congenital deficiency of a factor in normal plasma that reverses microangiopathic hemolysis and thrombocytopenia. *N. Eng. J. Med.* 1978; 289: 1350–1352.
6. Kremer- Hovinga J.A., Lammler B. Role of ADAMTS13 in the pathogenesis, diagnosis, and treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. *ASH 2012 Education Book*: 610–616.
7. Foettinger-Vacha A., Kaliwoda M., Matthiessen P. i wsp. Structural characterization of Baxter's recombinant human ADAMTS13 drug candidate. Abstrakt 2236.
8. Rottensteiner H., Plaimauer B., Schrenk G. i wsp. Functional characterization of Baxter's recombinant human ADAMTS13 drug candidate. Abstrakt 2235.
9. Muthurajah D.S., George J.N., Vesely S.K., Terrell D.R. Incidence, age, and gender of children with thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) associated with severe, acquired ADAMTS13 deficiency. Abstrakt 2196.
10. Doyeun Oh, Jang M.J., I. Kim, S-M. i wsp. Clinical features of severe acquired ADAMTS13 deficiency in thrombotic thrombocytopenic purpura: second report of the Korean TTP Registry. Abstrakt 2188.
11. Kamdar M.K., Chae P., Javaid M. i wsp. Retrospective analysis of patients afflicted with thrombotic thrombocytopenic purpura: a single institutional experience. Abstrakt 2200.
12. Chaturvedi S., Carcioppolo D., Zhang L., McCrae K.R.. Thrombotic thrombocytopenic purpura at the Cleveland Clinic 2000–2012: review of 100 cases and identification of prognostic factors. Abstrakt 3325.
13. Winters J.L. Plasma exchange: concepts, mechanisms, and an overview of the American Society for Apheresis Guidelines. *ASH 2012 Education Book*: 7–12.
14. Kekre N., Mallick R., Allan D.S., Timmouth A., Tay J. The influence of the duration of storage of red blood cells on cancer survival. Abstrakt 1184.
15. Stanworth S., Estcourt L., Powter G. i wsp. The effect of a no-prophylactic versus prophylactic platelet transfusion strategy on bleeding in patients with hematological malignancies and severe thrombocytopenia (TOPPS trial). A randomized controlled, non-inferiority trial. Abstrakt 1.
16. Stanworth S. Thrombocytopenia, bleeding and platelet transfusions in sick neonates. *ASH 2012 Education Book*: 512–516.
17. Palis J. Primitive and definitive erythropoiesis. Scientific program. Sesja: How to make a red blood cell. SCI-37.
18. Sluvkin I. Induced pluripotent stem cells and erythrocyte production. Scientific program. Sesja: How to make a red blood cell. SCI-38.
19. Douay L. In vitro production of erythrocytes. Scientific program. Sesja: How to make a red blood cell. SCI-39.
20. Takahashi K., Yamanaka S.. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 126: 663–676.