

AUTOTRASPLANTE DE CELULAS PROGENITORAS HEMATOPOYETICAS EN ESCLEROSIS MULTIPLE

JOSE FERNANDEZ^{1, 3}, JORGE CORREALE², REINALDO CAMPESTRI¹, BENJAMIN KOZINER¹

¹ Unidades de Trasplante de Médula Osea, CEMIC (Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas Norberto Quirno) y FLENI (Fundación de Lucha contra las Enfermedades Neurológicas de la Infancia Dr. Luis Carrea); ² Sección de Neuroinmunología y Enfermedades Desmielinizantes, FLENI; ³ Secciones de Hematología y Hemoterapia, CEMIC y FLENI, Buenos Aires

Resumen La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad desmielinizante que afecta al sistema nervioso central, de gran variabilidad clínica y de patogénesis autoinmune. En las variedades progresivas tanto primarias como secundarias las estrategias terapéuticas han tenido resultados poco satisfactorios. En la actualidad existe experiencia en el uso de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (CPHP) autólogas, deplecionadas o no de células T, y 43 enfermos con esclerosis múltiple han sido trasplantados e inscriptos en el Registro Europeo e Internacional de Trasplante de Células Hematopoyéticas para Enfermedades Autoinmunes. El acondicionamiento más utilizado fue el esquema BEAM y la mortalidad relacionada al trasplante fue de 7%. La sobrevida libre de eventos y la sobrevida global proyectada a los 38 meses fue de 85% y 90%, respectivamente. La creciente incorporación de pacientes a los registros internacionales proporcionarán información de utilidad a efectos de determinar si el entusiasmo inicial de este tratamiento es justificado para el control de las formas progresivas primarias y secundarias de EM.

Abstract *Autotransplantation of hematopoietic progenitor cells in multiple sclerosis.* Multiple sclerosis (MS) is an autoimmune demyelinating disease exhibiting great clinical variability. For control of its primary and secondary progressive variants, treatment has met with limited success. In recent years, increasing experience has been gained with the administration of high dose chemotherapy supported by the autologous infusion of hematopoietic progenitor cells (HPC), in some instances depleted of T cells. The European and International Registry of Hematopoietic Cell Transplantation for Autoimmune Diseases include 43 MS patients. BEAM was the most frequently used conditioning therapy. Treatment related mortality was 7%. The actuarial disease free survival and the overall projected survival at 38 months were 85% and 90% respectively. The inclusion of an increasing number of MS patients into these treatment programs and the growing submission of cases to the Registries will provide useful information to determine if the initial enthusiasm generated by this approach for the control of primary and secondary progressive forms of MS is justified.

Key words: transplantation, hematopoietic progenitor cells, multiple sclerosis, immunosuppression, autoimmune disease.

La Esclerosis Múltiple (EM) es una enfermedad desmielinizante adquirida del Sistema Nervioso Central (SNC) en la cual la mielina resulta el órgano blanco de una respuesta autoinmune. Las lesiones observadas en el SNC se localizan preferentemente en áreas periventriculares de los hemisferios cerebrales, así como en áreas subpiales del tronco encefálico y la médula espinal. Estas zonas de desmielinización (placas) varían en apariencia y textura dependiendo del tiempo de evolución y del grado de actividad.

Los estudios histoquímicos han permitido caracterizar los componentes celulares en las placas de EM. Se

han demostrado distintas células inflamatorias tales como linfocitos, plasmocitos, macrófagos, células de microglía y mastocitos, particularmente en estadios tempranos del desarrollo de la placa^{1, 2}, sin embargo los factores que condicionan la aparición de estas distintas células y el papel que cada una de ellas juega en la destrucción de la mielina, es aún motivo de controversias. Debe destacarse que si bien la EM ha sido considerada clásicamente una enfermedad primariamente desmielinizante, el axón puede afectarse, particularmente en las etapas tardías, y este compromiso parece ser un componente importante en los fenómenos de progresión de la enfermedad.

Las manifestaciones clínicas de la enfermedad aparecen típicamente entre los 20 y 40 años de edad con signos y síntomas episódicos y multifocales³. Existen dos elementos clínicos capitales: el primero es el perfil tem-

Recibido: 25-XI-1998

Aceptado: 29-IV-1999

Dirección postal: Dr. José Fernández, T. Saubidet 4196, 1603 Villa Martelli, Prov. de Buenos Aires, Argentina
Fax: (54-11)4709-0688

poral de los síntomas y los déficit neurológicos. Los mismos ocurren en múltiples episodios conocidos como brotes o exacerbaciones, seguidos por la desaparición de los síntomas o la restauración de la función, proceso conocido como remisión; la severidad del brote es altamente variable dependiendo del área y volumen del SNC afectado y la remisión puede ser completa o no. La aparición gradual de deficiencias neurológicas, referida como progresión, puede estar asociada o sustituir a las exacerbaciones y remisiones, dando origen a diferentes subtipos clínicos. Esta progresión de la enfermedad, la cual puede considerarse como una falla de la remisión, es responsable de la dishabilidad de los pacientes y del deterioro de la calidad de vida. El segundo elemento clínico de la mayor importancia se halla determinado por la diseminación anatómica dentro del SNC. La multiplicidad de deficiencias neurológicas, la presencia de exacerbaciones y remisiones con o sin progresión asociada, y la diferente severidad de la enfermedad, conducen a una marcada heterogeneidad de la población de pacientes con diagnóstico certero de EM.

A fin de estandarizar los distintos subgrupos de pacientes podemos considerar:

1) pacientes con brotes y remisiones: presentan exacerbaciones claramente definidas con o sin recuperación total y en un 50% de los casos presentan posteriormente formas progresivas secundarias⁴;

2) pacientes con formas progresivas primarias: presentan progresión de la enfermedad desde el comienzo con ocasionales estabilizaciones de la misma;

3) pacientes con formas progresivas secundarias: inicialmente presentan forma de brote y remisión, seguidas durante el curso de la enfermedad de una evolución progresiva y,

4) pacientes con formas progresivas y exacerbaciones: éstas son formas progresivas desde el inicio con brotes asociados, los cuales tienen recuperación o no, con períodos de progresión continua entre las exacerbaciones.

Se predice que la EM tendría evolución más severa si el paciente presenta alguno de los siguientes marcadores: las ya referidas formas primaria o secundaria progresiva, signos motores o cerebelosos al diagnóstico, intervalo menor de 2 años hasta la primera recaída, pobre remisión desde la última recaída, múltiples lesiones T2 en la resonancia nuclear magnética inicial y edad mayor de 40 años al comienzo de los síntomas^{5, 8}.

La asociación de EM con genes de relevancia inmunológica, la participación en los infiltrados del SNC de células T, B y macrófagos, la presencia de bandas oligoclonales en el LCR y el paralelismo de la EM con el modelo de encefalitis alérgica experimental (EAE), sustentan la naturaleza autoinmune de la enfermedad y justifican el uso de tratamientos inmunosupresores o inmunomoduladores. Durante varias décadas los

corticosteroides han sido el tratamiento de elección durante las exacerbaciones en EM; su efecto rápidamente disminuye la respuesta inflamatoria y estabiliza la barrera hematoencefálica, por ello los brotes son más breves y menos severos; sin embargo los corticoides no tienen efecto sobre el curso futuro de la enfermedad.

Otras estrategias para el tratamiento de la EM incluyen inmunosupresores, p.e. azathioprina, ciclofosfamida, metotrexato y ciclosporina, y más recientemente fármacos inmunomoduladores tales como beta-interferón y copolímero I. Sin embargo en las formas progresivas las respuestas a todas estas alternativas han sido modestas, por lo que se encontraría justificado utilizar propuestas terapéuticas de reciente incorporación y que a la luz de resultados recientes, son alentadoras; tengamos en cuenta que para la forma progresiva primaria la sobrevida es similar a la del linfoma indolente y para la forma "maligna" es similar a la fase estable de la leucemia mieloide crónica. Además, la vida puede tornarse poco tolerable para muchos de estos enfermos por discapacidad, dolor, reclusión y complicaciones, fundamentalmente infecciosas⁹.

En 1992 y 1993, respectivamente, Marmont¹⁰ y Van Bakkum¹¹ plantearon la alternativa del trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (CPHP) como tratamiento con expectativas de ser curativo en enfermedades autoinmunes severas. Este concepto se sustentó en dos líneas de evidencias: 1) la transferencia de enfermedad autoinmune del donante afectado al receptor luego de trasplante alogénico tanto en animales como en humanos y 2) cura o mejoría en la situación recíproca^{12, 14}. Varios modelos de enfermedades autoinmunes experimentales tales como la artritis adyuvante^{15, 16}, la EAE^{17, 20}, la miastenia grave experimental²¹ y el lupus murino MRL/LPR-LPR²² podrían curarse luego de radioterapia corporal total y trasplante de médula ósea alogénico, singénico o autólogo. La EAE, modelo animal inducido de la EM, es producida por inmunización con antígenos de la proteína básica de la mielina o proteolípidos mielínicos. Las células efectoras son linfocitos T CD4+ Th1, que reconocen autoantígenos mielínicos en el contexto de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clase II. Se ha demostrado que la recuperación del déficit motor en EAE aumenta luego de la radiación corporal total y trasplante de médula ósea singénico. No obstante, este tratamiento no impide siempre la recaída espontánea o inducida por reinmunización con proteína básica de mielina¹⁷. Otros trabajos observan la aparición de fenómenos de prevención y tolerancia^{18, 19}. Van Gelder y Van Bakkum en 1996 muestran que el trasplante alogénico fue más efectivo que el singénico en su capacidad para la prevención de recaídas en EAE y que el acondicionamiento con busulfán más ciclofosfamida fue tan efectivo como la radioterapia corporal total²³.

El trasplante con CPHP autólogas es una opción basada en argumentos teóricos, estudios animales y casos referidos. Se asumiría que el régimen ablativo previo tiene la suficiente capacidad para destruir el sistema inmune del paciente incluyendo los clones linfocitarios autoagresivos. Tanto la hematopoyesis como la linfopoyesis son reconstituidas por el inóculo de células progenitoras. El beneficio terapéutico provendría entonces del intenso régimen inmunosupresor, y también de un sistema inmune trasplantado que podría luego del implante adquirir tolerancia a autoantígenos, aunque este inóculo derivase de las células autólogas^{9, 12}. Cuando el trasplante es de células autólogas y no alogénicas, ya provenientes de sangre periférica (SP) o de médula ósea (MO) es difícil admitir circunstancias más importantes que la intensa inmunosupresión (IIS), como responsable de la respuesta que han obtenido pacientes con enfermedades autoinmunes, entre ellos aquellos con EM.

Respecto de la recolección de células precursoras hematopoyéticas necesarias para el posterior trasplante por aferesis de largos volúmenes de sangre periférica, es importante recalcar que los pacientes con EM pueden haber estado sometidos en forma crónica a tratamientos que característicamente disminuyen la reserva medular –por ejemplo, azathioprina– y a otros como los interferones, que dificultan las recolecciones del inóculo. En la actualidad se recomienda la recolección por aferesis de grandes volúmenes realizando los procedimientos necesarios hasta alcanzar un número de 10×10^6 /kg de peso de CD34+. Esta cantidad de células, pese a duplicar los números indicados y cuadruplicar los números necesarios, permitirá tolerar las pérdidas significativas que se producen por los métodos de purga, ya sean de selección positiva o negativa o ambos.

Es opinión mayoritaria, protocolizada en el Consenso de Milán²⁴ y reiterada en las Segundas Jornadas de Trasplante de Células Hematopoyéticas en Enfermedades Autoinmunes, que en EM la movilización para la recolección, se debería realizar con ciclofosfamida a dosis de 4 g/m² más factor estimulante de colonias granulocíticas (G-CSF) a dosis de 10 microgramos/Kg, por 5-7 días; utilizar exclusivamente G-CSF restaría inmunosupresión.

La IIS sería el mecanismo principal siempre que se utilicen CPHP purgadas –esto es– con la máxima pureza de células CD34+ y la máxima depleción de las deletéreas células T con el objeto de transferir enfermedad inmunológica mínima. Para inducir dicha depleción los linfocitos autorreactivos del paciente deben disminuirse entre 2 y 3 logaritmos¹¹. En el trasplante autólogo la depleción de células T no conlleva riesgos incrementados de falla de injerto y la selección positiva de células CD34+ con columnas ha demostrado ser tan efectiva como la purga por lavado y decantación de células T. No obstante estas medidas, persiste el riesgo de reintroducir

linfocitos autoagresivos y memoria²⁵. Con selección positiva de células CD34+, Link y colaboradores demostraron reducción entre 2 y 3 logaritmos en las células T (CD3+) del producto²⁶. Bensinger y colaboradores en 1996 refieren que luego el pasaje por columnas de adsorción, la recuperación media de CD34+ fue del 53% (rango: 18-77%). Existió una reducción de células CD3+ (Pan T) desde 5.7 (rango: 2.2-6.7) $\times 10^8$ /kg a 0.7 (rango: 0.4-3.6 $\times 10^4$ /kg. La reducción de CD4+ fue desde 3.5 (rango: 1.9-5.2) $\times 10^8$ /kg a 0.4 (rango: 0.1-1.0) $\times 10^4$ /kg²⁷. Otro trabajo demostró que con la selección positiva con columnas de adsorción se obtuvo una recuperación media de células CD34+ del 65%²⁸. El inóculo no debería presentar una cifra superior a 1×10^5 /kg de células T. Hasta el momento no existe evidencia que con la depleción T se logren mejores resultados^{29, 30}; no obstante ello, la mayoría de los investigadores utilizan depleción de células T a efectos de compararlos con el grupo histórico sin dicha depleción^{30, 34}.

La mortalidad asociada a la inmunosupresión intensa y autotrasplante de MO o células progenitoras de SP es de alrededor del 7% (según la referencia de A. Fassas en que describe 3 muertes relacionadas a trasplante en 43 enfermos con EM en los pacientes ingresados al Registro Europeo e Internacional, y que más adelante se describen)³⁵, porcentaje no despreciable, pero que debe ser compensado con la mortalidad por toxicidad que ejerce la terapia inmunosupresora convencional en el tratamiento de esta enfermedad.

El protocolo de acondicionamiento utilizado en EM ha sido predominantemente con el esquema BEAM (BCNU, etopósido, arabinósido de citosina y melfalán) más GAL (globulina antilinfocitaria). Este tratamiento se basa en las siguientes premisas:

- 1) El BEAM ha sido utilizado como terapia de acondicionamiento pretrasplante de MO o CPHP autólogo, fundamentalmente en linfomas no Hodgkin y enfermedad de Hodgkin con resultados similares a otros protocolos clásicos y sin mayor morbimortalidad asociada a toxicidad^{36, 41}.

- 2) El BEAM con el agregado o no de GAL ha sido el protocolo más utilizado para el acondicionamiento en EM, sin agregado de morbimortalidad.

- 3) Las 4 drogas del protocolo BEAM poseen pasaje espontáneo a través de la barrera hemato-encefálica; cuando existe disrupción de esta barrera el pasaje es mayor y este evento sucede en EM^{42, 47}. Pese a que desconocemos la relación plasma/LCR de las concentraciones de estas drogas en EM, suponemos que logran el potencial linfocítico adecuado para la destrucción de clones linfocitarios autoagresivos y linfocitos de memoria acantonados en el SNC.

- 4) El agregado de GAL tiene por objeto incrementar la inmunosupresión, fundamento final del acondicionamiento^{48, 50}.

Para el protocolo BEAM, diferentes publicaciones refieren falla de injerto menor de 1%, enfermedad venooclusiva menor de 2%, fiebre durante la neutropenia mayor de 90% y mucositis universal. El tiempo hasta la recuperación de neutrófilos (> 500 por mm^3) y plaquetas ($> 50\,000$ por mm^3) no difirió significativamente de los observados en otros protocolos mieloablativos^{36, 41}.

En octubre de 1998 se realizaron en Basilea, Suiza, las Segundas Jornadas de Trasplante de Células Hematopoyéticas en Enfermedades Autoinmunes en las cuales se refirió la experiencia de 33 equipos de 13 países (todos europeos, excepto EE.UU.) según el Registro Europeo (EBMT/EULAR) e Internacional.

Resumiremos a continuación algunas de las presentaciones que consideramos relevantes:

Fueron registrados 112 pacientes y 110 trasplantados. Se incluyeron 2 pacientes con muerte pre-trasplante de los cuales uno falleció por infección durante la movilización de células progenitoras. De los 110 pacientes trasplantados 43 (39%) tenían diagnóstico de EM. A. Fassas³⁵ se refirió específicamente a los pacientes con diagnóstico de EM ingresados desde 1995 hasta la actualidad, con una edad media de 43 años, en los que 12 trasplantes fueron realizados en la forma progresiva primaria y 31 en la progresiva secundaria. El EDSS (Expanded Disability Status Scale)⁵¹ fue el parámetro más utilizado para valorar la inclusión de enfermos. Treinta de los 43 pacientes EM fueron movilizados para la recolección de células progenitoras autólogas con ciclofosfamida a dosis de 4 g/m^2 más G-CSF a dosis entre 5 y 10 microgramos/kg. No se realizó ningún tipo de selección o purga en 17 enfermos. En 35 pacientes el acondicionamiento fue BEAM más GAL. En EM el seguimiento medio fue de 12 meses (rango: 1-53). No se refirieron fallas de injerto. El procedimiento tuvo la tolerancia usual. De los 38 pacientes evaluables tres murieron en los días +7, +20 y +58 por insuficiencia cardíaca, neumonía por influenza y aspergillosis pulmonar, respectivamente. En 12 de los 38 pacientes evaluables existió mejoría entre 1 y 3 puntos en la escala EDSS. Diez y ocho pacientes permanecieron con enfermedad estable, lo que en las variantes progresivas puede implicar, de persistir por un lapso prolongado, una buena respuesta. La sobrevida libre de progresión y la sobrevida global proyectada a 38 meses fue del 85% y 90% respectivamente, cifras que de confirmarse cumplido ese lapso, constituirían un robusto avance en el tratamiento de las formas progresivas de EM. En dos pacientes se observaron recrudescimientos de signos neurológicos (hemiparesia en un paciente en dos oportunidades y convulsiones en otro) los cuales fueron transitorios y retrogradaron con metilprednisona. Estos agravamientos deben ser considerados para su rápido manejo en todos los casos de EM así como en otras enfermedades autoinmunes. Su aparición se encontró relacionada con el uso de G-CSF.

Estos datos presentados por A. Fassas confirman y amplían las comunicaciones previas del mismo autor con pacientes del grupo griego^{28, 29} y del registro europeo³⁰.

El primer caso publicado en EE.UU. e incorporado al registro es de 1996, se refiere una paciente de 49 años con enfermedad progresiva sin respuesta a CFM y corticoides, con Kurtzke EDSS de 8 y con deterioro de 2 puntos en los últimos 12 meses. La enferma recibió un trasplante autólogo deplecionado de células T y plasmáfesis, CFM, gammaglobulina, GAL y radioterapia corporal total como terapia de acondicionamiento previa. No presentó complicaciones post-trasplante y la función neurológica se encontraba estable y libre de progresión a los 8 meses de evaluación³².

Posteriormente se describieron 3 pacientes con Kurtzke EDSS de 8 y caída de 1.5 puntos en los 12 meses previos a la inclusión en el programa de trasplante. Como acondicionamiento fue utilizada CFM, metilprednisona y radioterapia corporal total. Recibieron inóculo proveniente de MO y SP autólogos con selección de CD34+ por columnas Cell Pro. En una media de seguimiento de 7 meses (rango: 4-8) fue observada mejoría neurológica funcional en los 3 pacientes y sin recaídas posteriores. Al momento del informe los pacientes se hallaban libres de toda medicación inmunosupresora. Los autores concluyen que en estos pacientes el trasplante autólogo de médula ósea resultó en mejoría, obtenida por primera vez desde la instauración de la enfermedad progresiva^{33, 34}.

Recientemente, W. Burns⁵² informó que 18 pacientes con EM fueron trasplantados en EE.UU. y aún no han sido incorporados al Registro Internacional y enfatizó la importancia y necesidad de realizar estudios controlados.

En cuanto a la selección de pacientes parece existir consenso en registrar a pacientes en las variedades progresivas, con EDSS entre 3.5 y 8.0, aunque preferentemente con menos de 6 puntos y pacientes con caída del EDSS de 2 puntos en los dos últimos años o de 1.5 en el último año. El paciente debe ser menor de 65 años, no obtener respuesta satisfactoria a inmunosupresión convencional, hallarse libre de infección al ingreso a la unidad, sin disfunción grave de órganos y rubricar el consentimiento informado de aceptación del procedimiento.

Como planteo futuro de esta terapéutica quizás interesaría conocer si algunas maniobras logran mejorar los resultados referidos, sin toxicidad significativa agregada, por ejemplo: a) uso de análogos de purina o de globulina antilinfocitaria antes de la movilización con el objeto de realizar una purga *in vivo* previa a la recolección del inóculo, b) uso de análogos de purina, interferones o ciclosporina en el mantenimiento post-trasplante, utilizando esta última a dosis menores, a fines de evitar la nefrotoxicidad del 85% y la frecuente hipertensión arterial observada en protocolos utilizando este fármaco

en EM⁵³, c) exploración del minitrasplante alogéneo, d) uso de diferentes drogas inmunosupresoras en investigación, uso de vectores génicos incorporados por trasplante, etc. Excede las pretensiones de esta revisión explayarnos más en este campo.

El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas autólogas luego de intenso régimen inmuno-mielosupresor constituiría actualmente un tratamiento prometededor para las variantes progresivas de EM, pues se han referido resultados, reproducidos por distintos grupos, que permitirían consolidar el optimismo inicial^{29, 35}. A ello se agrega una creciente incorporación de enfermos a registros internacionales y la importante adhesión al protocolo diseñado en el Consenso de Milán²⁴.

Bibliografía

- Katz D, Taubenberger D, Canella B, et al. Correlation between magnetic resonance imaging findings and lesion development in chronic active multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1993; 34: 661-9.
- Prineas JW, Barnard RO, Revesz T, Kwon EE, Sharer L, Cho ES. Multiple sclerosis. Pathology of recurrent lesions. *Brain* 1993; 116: 681-93.
- Rudick RA. Multiple sclerosis. In: Cecil Textbook of Medicine, 21th edition, Bennet JC, Plum F (eds) 1996; p 2106-13.
- Wood AJJ. Management of Multiple Sclerosis. *N Engl J Med* 1997; 337: 1604-11.
- Runmarker B, Andersen O. Prognostic factors in multiple sclerosis incidence cohort with twenty-five years of follow-up. *Brain* 1993; 116: 117-34.
- Runmarker B, Andersson C, Oden A, Andersen O. Prediction of outcome in multiple sclerosis based on multivariate models. *J Neurol* 1994; 241: 597-604.
- Weinshenker BG. Natural history of multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1994; 36: Suppl: S6-S11.
- Weinsheiker BG, Rice GP, Noseworthy JH, et al. The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. Multivariate analysis of predictive factors and models of outcome. *Brain* 1991; 14: 1045-56.
- Burt RK, Burns W, Hess A. Bone Marrow transplantation for multiple sclerosis. *Bone Marrow Transplant* 1995; 16: 1-6 (Editorial).
- Marmont AM. Autoimmunity and allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1992; 9: 1-3 (Editorial).
- Van Bekkum DW. Review: BMT in experimental autoimmune disease. *Bone Marrow Transplant* 1993; 11: 183-7.
- Marmont AM. Immune ablation followed by stem cell rescue: a new radical approach to the treatment of severe autoimmune disease. *Trends Exp Clin Med* 1995; 5: 24-36.
- Ikehara S. Intractable disease and bone marrow transplantation. *Pathol Int* 1994; 44: 817-26.
- Blank M, Krause I, Lanir N, et al. Transfer of experimental antiphospholipid syndrome by marrow cell transplantation. The importance of the T cell. *Arthritis & Rheumatism* 1995; 38: 115-22.
- Knaan-Shanzer S, Houber P, Kinwel-Bohré EPM, Van Bekkum DW. Remission induction of adjuvant arthritis in rats by total body irradiation and autologous bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1991; 8: 333-8.
- Van Bekkum DW, Bohrre EPM, Houben PFJ, Knaan-Shanzer S. Regression of adjuvant-induced arthritis in rats following bone marrow transplantation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 10090-4.
- Van Gelder M, Kinwel-Bohré EPM, Van Bekkum DW. Treatment of experimental allergic encephalomyelitis in rats with total body irradiation and syngeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1993; 11: 233-41.
- Karussis DM, Vourka-Karussis U, Lehman D. Prevention and reversal of adoptive transferred, chronic relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis with a single high dose cytoreductive treatment followed by syngeneic bone marrow transplantation. *J Clin Invest* 1993; 92: 765-72.
- Burt RK, Hess A, Burns W, Padilla J. Syngeneic bone marrow transplantation eliminates V beta 8.2 T lymphocytes from spinal cord of Lewis rats with experimental allergic encephalomyelitis. *J Neurosci Res* 1995; 41: 526-31.
- Burt RK, Padilla J, Dal Canto MC, Miller SD. Remission of relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis by immune ablation and bone marrow transplantation. *Blood* 1995; 88 (Suppl. 1): 598a.
- Penstronk A, Drachman DB, Teoth R, Adams RN. Combination short term immunotherapy for experimental autoimmune myasthenia gravis. *Ann Neurol* 1983; 14: 235-41.
- Fastenrath S, Gaethke U, Brandt D, Schroeder JO, Euler HH. Treatment of murine lupus by syngeneic and unmanipulated stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1996 (Supp 1). Abstract 68a.
- Van Gelder M, Mulder AH, Van Bekkum DW. Treatment of relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis with largely MHC- matched allogeneic bone marrow transplantation. *Transplantation (USA)* 1996; 62: 812-8.
- Comi G, Kappos L, Clanet M, Fassas A, Tyndall A, Van de Meché FGA, and the BMT-MS Study Group. Guidelines for Blood and Marrow Transplantation in Multiple Sclerosis. A consensus Report Written on Behalf of the European Group for Blood and Marrow Transplantation and the European Charcot Foundation (ECF). Nov 1998. Consenso no publicado. Información: Prof. G. Comi. Hospital San Raffaele de Milán (Fax +39-02-26432881, e-mail: g.comi@hsr.it) o Prof. L. Kappos. Hospital Cantonal de Basilea (Fax +41-61-265.4100; e-mail: Kappos@ubaclu.unibas.ch).
- Cottler-Fox M, Cipolone K, Yu M. Positive selection of CD34+ hematopoietic cells using an immunofluorescence column results in T cell depletion equivalent to elutriation. *Exp Hematol* 1995; 23: 320-2.
- Link H, Arseniev N, Bahré O, Kadar JG, Diedrich H, Poliwoda H. Transplantation of allogeneic CD34+ blood cells. *Blood* 1996; 87: 4903-9.
- Bensing WI, Buckner CD, Shannon Dorcy K, et al. Transplantation of allogeneic CD34+ peripheral blood stem cell in patients with advanced hematologic malignancy. *Blood* 1996; 88: 4132-8.
- Urbano-Ispizúa A, Rozman C, Martínez C, et al. Rapid engraftment without significant graft-versus host disease after allogeneic transplantation of CD34+ selected cells from peripheral blood. *Blood* 1997; 89: 3967-73.
- Fassas A, Anagnostopoulos A, Kazis A, Sakellari I, Kapinas K, Kaloyannides P. Peripheral blood progenitor cell transplantation for treatment of multiple sclerosis. *Bone Marrow Transplant* 1996; (Suppl 1). 69a.
- Fassas A. Hematopoietic stem cell transplantation for autoimmune disease. 27th ISH-EHA Combined Haematology Congress. Amsterdam, The Netherlands. July 1998. Abstract HIF-1092.
- Passweg JR, Fassas A, Black M, Gratwohl A, Tyndall A.

- The EBMT/EULAR autoimmune disease stem cell project. Autologous stem cell transplantation for autoimmune disease. A preliminary report. 39th Annual Meeting of The American Society of Hematology. San Diego, California, USA. December 1997. Abstract 1027.
32. Smith FO, Kolar R, Abonour R, et al. Autologous, soybean agglutinin and sheep red blood cell T-depleted bone marrow transplantation in a patient with chronic progressive multiple sclerosis. 38th Annual Meeting of The American Society of Hematology. Orlando, Florida, USA. December 1996. Abstract 3879.
 33. Burt RK, Traynor A, Cohen B, et al. T depleted autologous hematopoietic stem cell transplantation for multiple sclerosis: report of the first three patients. 39th Annual Meeting of The American Society of Hematology. San Diego, California, USA. December 1997. Abstract 1706.
 34. Burt RK, Traynor A, Cohen B, et al. T depleted autologous hematopoietic stem cell transplantation for multiple sclerosis: report of the first three patients. *Bone Marrow Transplant* 1998; 21: 537-41.
 35. Fassas A. Hematopoietic stem cell transplantation for multiple sclerosis. EULAR/EHSCT data base. Second Meeting of Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Autoimmune Disease. Basel, Switzerland. October 1998.
 36. Chopra R, McMillan AK, Linch DC, et al. The place of high dose BEAM therapy and autologous bone marrow transplantation in poor risk Hodgkin's disease. A single center eighth year study of 155 patients. *Blood* 1993; 81: 1137-45.
 37. Bastion Y, Brice P, Haioun C, et al. Intensive therapy with peripheral blood progenitor cell transplantation in 60 patients with poor follicular lymphoma. *Blood* 1995; 86: 3257-62.
 38. Mills W, Chopra R, McMillan A, Pearce R, Linch DC, Goldstone AH. BEAM chemotherapy and bone marrow transplantation in patients with relapsed or refractory non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1995; 13: 588-95.
 39. Linch DC, Vaugham Hudson B, Anderson L, Vaugham Hudson G. Impact of high-dose salvage therapy (BEAM) on overall survival in younger patients with advanced large-cell lymphomas entered into BNLI trials. *Ann Oncol* 1997; 8 (Suppl 1), 63-5.
 40. Rossi A, Cortellazo S, Bellavita P, et al. Long term haematological reconstitution following BEAM and autologous transplantation of circulating progenitor cells in non-Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol* 1997; 96: 620-6.
 41. Cortellazo S, Rossi A, Viero P, et al. BEAM chemotherapy and autologous haematopoietic progenitor cell transplantation as front line therapy for high-risk patients with diffuse large cell lymphoma. *Br J Haematol* 1997; 99: 379-85.
 42. Scott-Moncrieff JC, Chan TC, Samuels LE, Cook JR, Coppoc GL et al. Plasma and cerebrospinal fluid pharmacokinetics of cytosine arabinoside in dogs. *Cancer Chemother Pharmacol* 1991; 29: 13-8.
 43. Cornford EM, Young D, Paxton JW, et al. Melphalan penetration of blood-brain barrier via the neutral amino acid transporter in tumor bearing-brain. *Cancer Res* 1992; 52: 138-43.
 44. Rostomily RC, Spence AM, Duong D, et al. Multimodality management of recurrent adult malignant gliomas: results in Phase II multiagent chemotherapy study and analysis of cytoreductive surgery. *Neurosurgery* 1994; 35: 378-88.
 45. Finlay JL, Goldman S, Wong MC, et al. Pilot study of high dose of Thiotepea and etoposide with autologous bone marrow rescue in children and young adults with recurrent CNS tumors. The Children's Cancer Group. *J Clin Oncol* 1996; 14: 2495-503.
 46. Relling MV, Mahmoud HH, Pui CH, et al. Etoposide achieves potentially cytotoxic concentrations in CSF of children with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 1996; 14: 399-404.
 47. Begley DJ. The blood-brain barrier: principles for targeting peptides and drugs to the central nervous system. *J Pharm Pharmacol* 1996, 48: 136-46.
 48. Bunin N, Leahey A, Kamani N, August C. Bone Marrow Transplantation for children with severe Aplastic Anemia: Cyclophosphamide/ATG conditioning followed by G-CSF. *Blood* 1994; 84 (10, suppl 1) abst. 791.
 49. Kernan NA, Young J, Papadopoulos E, et al. Antithymocyte Globulin & Methylprednisolone promote engraftment of T cell depleted BMTs from HLA-identical siblings. *Blood* 1995; 86 (10, suppl 1) abst. 2470.
 50. Saughnessy S, Lewis M, Schroeder J, Allerton S, Wilks K, Christman M. Bone Marrow Transplantation for patients with severe aplastic anemia using cyclophosphamide and antithymocyte globuline. *Blood* 1995; 76 (10, suppl) abst. 3849-50.
 51. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an Expanded Disability Status Scale. *Neurology* 1983; 33: 1444-52.
 52. Burns W. Hematopoietic stem cell transplantation for multiple sclerosis. IBMTR/ABMTR Meeting. Keystone, Colorado, USA. February 1999.
 53. The Multiple Sclerosis Study Group. Efficacy and toxicity of cyclosporine in chronic progressive multiple sclerosis: a randomized, double blinded, placebo-controlled clinical trial. *Ann Neurol* 1990; 27: 591-8.