

# Multipl Skleroz'da Kök Hücre Tedavisi: Deneyimler, Sorular ve Sorunlar / Stem Cell Transplantation in Multiple Sclerosis: Experiences, Questions and Problems

Ayşe Altıntaş, Gülçin Benbir

*Istanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı, İSTANBUL*

## ABSTRACT

**Stem Cell Transplantation in Multiple Sclerosis: Experiences, Questions and Problems**

**Scientific background:** Autologous haematopoietic stem cell transplantation is an immunosuppressive treatment used to sustain long-term stabilization of multiple sclerosis (MS). The clinical efficacy of this therapy needs to be proved by studies comparing its effect with other treatments formerly shown to be effective in MS, such as mitoxantrone. High dose immunosuppressive treatment together with haematopoietic stem cell transplantation has high mortality risk. For this reason, before suggesting these treatments to the patients we should think carefully.

**Conclusion:** Although, MS cases with low EDSS scores and gadolinium-enhancement in brain MRI, and young patients with progressive disease course are suggested as the most suitable candidates for haematopoietic stem cell transplantation in medical literature, it must be remembered that there is no study comparing its clinical efficacy and efficiency with the formerly approved drugs to treat MS.

## ÖZET

**Bilimsel zemin:** Otolog hematopoetik kök hücre transplantasyonu, uzun süreli MS stabilizasyonu sağlanması amacıyla denenen uzun süreli immünespressif bir tedavi yöntemidir. Bu tedavinin klinik yararlılığının, etkinliği gösterilmiş olan mitoksantron gibi mevcut standart tedavilerle karşılaştırılarak doğrulanması gerekmektedir. Hematopoetik kök hücre transplantasyonu ve yanı sıra uygulanan yüksek doz immünespressif tedaviler, beraberinde yüksek mortalite riskini de getirmektedir. Bu nedenle hastalara önermeden önce tüm yönleri dikkatle düşünülmelidir.

**Yorum:** Literatürde; düşük özürülük derecesi ile birlikte beyinde gadolinium kontrastlanması gösteren, ilerleyici tipte hastalık seyri gözlenen genç hastalar, hematopoetik kök hücre transplantasyonu için en uygun adaylar olarak önerilmekle birlikte, bu tedavileri etkinliği ispatlanmış tedavilerle karşılaştıran ve etkinliğini-üstünlüğünü ispatlayan bir çalışmanın henüz bildirilmediğini unutmamak gereklidir.

**Keywords:** multiple sclerosis, haematopoietic stem cell transplantation.

**Anahtar kelimeler:** multipl skleroz, hematopoetik kök hücre transplantasyonu.

## Yazışma Adresi/Address for Correspondence:

Prof. Dr. Ayşe Altıntaş  
Istanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı, 34303, İSTANBUL  
Tel: 0212 414 35 94  
aalinttas@istanbul.edu.tr

Dergiyeye Ulaşma Tarihi/Received: 21.07.2006

Revizyon İstenme Tarihi/Sent for revision: 23.07.2006

Kesin Kabul Tarihi/Accepted: 24.08.2006

## GİRİŞ

Multipl skleroz (MS); santral sinir sistemini (SSS) etkileyen, miyelin yıkımı ve aksonal hasar ile şekillenen inflamatuvar-dejeneratif bir hastalıktır. Multipl skleroz'da miyelin yapımından sorumlu olan oligodendrositlerin (Og) yanısıra nöronlar da yıkılmaktadır.<sup>1,2</sup> Hastaların çoğunda ilk 5-15 yıl içinde ataklarla seyreden tipte hastalık seyri görülür. Bunu takiben sekonder progressif dönem başlayarak kalıcı nörolojik özürülük ortaya çıkar.<sup>3</sup> Ataklar inflamasyon ve demiyelinizasyon sonucu oluşur. Sinir iletilerinin geri kazanılması ve remisyonlar ise; inflamasyonun çözülmesi, demiyelinize olmuş aksonlar üzerindeki sodyum kanallarının tekrar düzenlenmesi ve remiyelinizasyon sonucu gelişir.<sup>4,5</sup> Demiyelinizasyon MS'de her zaman kalıcı değildir, hastalığın erken dönemlerinde elde edilen biyopsi örnekleri ve postmortem çalışmalar ile remiyelinizasyonun geliştiği gösterilmiştir. Buna karşın kronik MS lezyonlarının çoğu remiyelinizasyon göstermezler.<sup>6,7</sup>

Deneyisel kanıtlar yeni miyelin kılıflarının, demiyelinizasyon atağı sonrasında lezyon içinde sağlam kalan Og'ler tarafından değil, Og prekürsör (öncül) hücrelerinden kaynaklandığını göstermiştir.<sup>8,9</sup> Demiyelinizasyona cevap olarak bu hücreler çoğalır, göç eder ve demiyelinize olmuş alanı hızlıca doldururlar. Normal erişkin ak maddesinde Og prekürsörleri belirli bir sayıda bulunurlar, ancak demiyelinizasyon esnasında aktive olurlar ve çoğalmaya başlarlar.

### MS'te remiyelinizasyonun oluşumunda inflamasyonun rolü

Yakın zamanda yapılan çalışmalar, remiyelinizasyonun, demiyelinizasyon halen devam ederken başladığını doğrulamıştır.<sup>6,10</sup> MS'in erken inflamatuvar fazında plakların %40'ı, plak hacminin %10 veya daha fazlasını içeren remiyelinizasyon alanlarına sahiptir.<sup>11</sup> Giderek artan kanıtlar, demiyelinizasyon ile ilişkili inflamasyon cevabının, remiyelinizasyonun en

azından bir kısmında faydalı etki gösterebileceğini öne sürmektedir. Deneyisel otoimmün ensefalomyelitin (EAE) dışındaki diğer demiyelinizasyon modellerinde, inflamasyon cevabının demiyelinizasyondan sonra, sebep değil ancak sonuç olarak ortaya çıktığı gösterilmiştir. Bu modeller, sistemik kuprizon, fokal lizolesitin veya etidyum bromür verilmesi ile "toksine sekonder oluşturulan Og ve miyelin hasarı" ile oluşmaktadır.<sup>12,13</sup> IL-1 ve TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinlerin bulunmadığı 'knock-out' farelerde, remiyelinizasyonun etkinliğinin azaldığı saptanmıştır.<sup>14,15</sup> Ayrıca, major doku uyumu kompleksi (MHC) II veya T lenfositleri olmayan farelerde de remiyelinizasyonun bozuk olduğu gösterilmiştir.<sup>15</sup> Birbirinden bağımsız tüm bu çalışmalar inflamatuvar medyatörlerin remiyelinizasyona uygun bir ortam oluşturulmasındaki önemine işaret etmektedir.

### Multipl Skleroz'da Miyelin Tamiri

1945'de, ultrastrüktürel çalışmalar ile MS'de spontan miyelin tamiri olduğunun ilk kesin kanıtları sağlanmış,<sup>11</sup> birkaç yıl sonrasında deneyisel modellerde de spontan SSS remiyelinizasyonu gösterilmiştir.<sup>16</sup> İlk zamanlarda klasik olarak tanımlanan "gölge plaklar"ın (shadow plaques) gerçekte yeni gelişen miyelin kılıflarından oluştukları anlaşılmıştır.<sup>17</sup>

Erişkin insan SSS'inde miyelinli alanlardaki normal Og prekürsör yoğunluğu ile ilgili veri bulunmamaktadır. Ancak kemirgenlerde bu değer tüm hücrelerin yaklaşık olarak %4'ü olarak öne sürülmüştür.<sup>18,19</sup> Normal insan ak maddesinde bir milimetrekare kesitte (10  $\mu$ m kalınlığında) yaklaşık 450-600 hücre bulunmaktadır. Eğer insan ak maddesinde %4 oranında Og prekürsör hücreleri var ise, o halde dansiteleri milimetrekareye 18 ile 24 hücre arasında değişecektir ve bu oran kronik MS lezyonlarında saptanan oran ile benzerdir (2-34 prekürsör hücre/mm<sup>2</sup>).<sup>20</sup>

Og progenitör (öncül) hücreleri matür Og



sağlamaktan ziyade, spontan remiyelinizasyonun büyük bir kısmından sorumlu tutulmaktadır.<sup>21-24</sup> Og prekürsörlerinin fenotipik göstergelerini taşıyan matür olmayan birçok Og yeni lezyonlarda saptanabilmektedir.<sup>20,25-27</sup> Araştırmalarda, lezyondaki Og prekürsör hücre yoğunluğu ile lezyon yaşı arasında pozitif bir korelasyon saptanamamıştır. Ek olarak, MS lezyon yaşının bir göstergesi olan makrofaj varlığı ve sayısı da, kronik lezyonlardaki prekürsör popülasyonu ile ilişkili bulunmamıştır.<sup>28,29</sup>

İnsan Og hücrelerinin gelişim basamakları ve MS'in kronik döneminde Og popülasyonunun neden rejenera olamadığı konusundaki veriler sınırlıdır. Özellikle, MS'de Og prekürsörlerinin işlevi tam olarak bilinmemektedir. Remiyelinizasyon kusurunun Og ve prekürsörlerinin yıkımına bağlı olup olmadığını inceleyen bir çalışmada,<sup>20</sup> kronik MS döneminde bulunan 14 hastadan alınan toplam 22 MS lezyonu incelenmiş ve bu bölgelerde oldukça fazla düzeyde Og prekürsörlerinin varlığı gösterilmiştir. MS doku örneklerinde, demiyelinizasyon gösteren alanlarda Og prekürsör hücrelerinin yaşıyor oldukları gösterilebilmektedir, ancak kronik MS dönemlerinde bu hücrelerin çoğalma ve farklılaşma kapasitelerinin bozulduğu düşünülmektedir. Bu prekürsörlerin hiçbirisi Ki-67 antikoru ile tanımlanan nükleer proliferasyon antijeni taşımamaktadırlar. (Ki-67 antikoru ile tanınan nükleer protein sadece G1, S, G2 ve M hücre siklusunda bulunan, çoğalmakta olan hücrelerin yüzeylerinde bulunurlar, G0 hücre fazında ise bulunmazlar).<sup>30</sup> Bir diğer çalışmada Chang ve ark. (2002) 10 MS hastasının otopsi materyellerinden 48 kronik lezyonu incelemişler, bu lezyonlarda Og prekürsör hücrelerinin distrofik çıplak aksonlar ile etkileşim halinde olmalarına rağmen, remiyelinizasyonu sağlayamadıklarını göstermişlerdir.<sup>31</sup> Bu bulgular, kronik MS'de **"aksonların miyelinizasyona yatkın olmadığı"** şeklinde yorumlanmış ve Og prekürsör hücre transplantasyon tedavisi konusundaki şüpheleri ortaya çıkarmıştır. Bu nedenle, remiyelinizasyonun oluşturulması için endojen Og prekürsörlerini aktive

edebilecek mekanizmaların tanımlanması, kök hücre transplantasyonuna alternatif bir tedavi seçeneği oluşturabilir.

Astrositik skar oluşumu ve inhibitör faktörlerin varlığı gibi pek çok neden MS'de miyelin tamirini engelleyebilmektedir. MS lezyonlarında bulunan transforme edici büyüme faktörü- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) ve interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )'nın kronik lezyonlardaki Og prekürsör hücreleri sessiz dönemde tuttuğu gösterilmiştir.<sup>32</sup> Bu hipotez in vivo çalışmalarda sınanmış ve hem TGF- $\beta$  hem de IFN- $\gamma$ 'nın Og prekürsör hücrelerinin mitojenlere karşı çoğalma cevabını azalttıkları saptanmıştır.<sup>33,34</sup> Bu etkileri geri dönüşümlüdür. Aynı zamanda IFN- $\gamma$ , Og farklılaşmasını da inhibe etmektedir. IFN- $\gamma$ 'nın etkileri, MS lezyonlarında bulunan bir diğer faktör olan tümör nekroze edici faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) tarafından artırılmaktadır.<sup>32</sup> Benzer şekilde, IFN- $\gamma$  salınımı, bir sitokin olan osteopontin tarafından da uyarılmaktadır.<sup>35</sup> Ancak bu faktörlerin gerek in vitro, gerekse in vivo koşullarda erişkin Og prekürsör hücrelerinin çoğalma ve/veya farklılaşmalarını engelleyebilme kapasiteleri henüz bilinmemektedir.<sup>36</sup>

MS'de miyelin ve Og hasarını engellemeyi amaçlayan tedavilere ek olarak, oluşan hasarı tamir etmeye yönelik tedavi stratejilerinin geliştirilmesine de ihtiyaç duyulmaktadır. Hayvan deneylerinde saflaştırılmış Og, Og prekürsörü ya da periferik sinir sisteminin miyelin üreten hücreleri olan Schwann hücrelerinin transplantasyonu ile etkin bir şekilde miyelin tamiri olduğu gösterilmiştir.<sup>37-39</sup> Ancak bu prosedürün insanlarda uygulanması, insan Og prekürsör kaynağının kısıtlı olması gibi bir çok sorunu beraberinde getirmektedir. Ayrıca, kronik MS lezyonları gerçekten de remiyelinizasyonu engelleyen inhibitör faktörler içeriyorsa, transplantasyonun başarısı sınırlı olacaktır. Belirttiğimiz gibi, kronik MS lezyonlarında yeterli miktarda Og prekürsör popülasyonunun varlığı gösterilmiştir. Bu nedenle SSS remiyelinizasyonunu artırmaya yönelik tedavi stratejileri; bu hücrelerin çoğalmasını ve yeni miyelin



---

üreten hücrelere dönüşümünü uyaracak mekanizmaları da içermelidir.

## **Multipl Sklerozda Kök Hücre Transplantasyonu**

Kök hücre biyolojisi ve nöron ve/veya glia hücrelerine dönüşebilme kapasiteleri ile ilgili son yıllarda büyük gelişmeler elde edilmiştir. Bu durum insanda beyin hastalıklarında yeni tedavi olasılıklarını gündeme getirmiş, farklılaşmamış kök hücrelerin veya progenitör hücrelerin transplantasyonu ile SSS hastalıklarının önlenebileceği umudunu uyandırmıştır.<sup>40-43</sup>

Multipl skleroz, altta yatan bozukluğun immün sistem aracılı miyelin kaybı olması ve hasarlı alana yeni miyelin üreten hücrelerin verilmesi ile kompanse edilebileceği düşünülmesi nedeni ile, kök hücre veya progenitör hücre transplantasyonu için ilgi çekici bir hastalık olma özelliğindedir.

## **Progenitör – ya da kök hücre transplantasyon yolları**

### *Intraserebral transplantasyon*

Demiyelinizan plak alanlarında yeni miyelin üretimi için en direkt uygulama, progenitör hücrelerin transplantasyonudur.<sup>41,44,45</sup> Aslında, çok sayıdaki deneysel çalışma, Og veya Schwann hücresine dönüşebilme kapasitesi olan hücrelerin transplantasyonu ile demiyelinizan plaklarda miyelin oluştuğunu göstermiştir. Buna karşın uygulamada pek çok engel halen çözümlenmeyi beklemektedir. İlk olarak, insanda hangi hücrelerin transplantasyon için en uygun olduğu bilinmemektedir. En kolay elde edilen hücreler Schwann hücreleridir, ancak SSS'de dağılımları ve miyelin üretme kapasiteleri astrositlerin varlığına bağlıdır. Hem santral, hem de periferik sinir sistemi özelliklerini bulunduran olfaktör kılıf hücrelerinin, in vivo ortamda demiyelinizan plaklar üzerinde daha iyi etkiye sahip oldukları gösterilmiştir.<sup>46</sup> Oligodendrosit prekürsörlerinin ve hatta nöral kök

hücrelerinin kullanımı yeni oligodendrositler için gerçek bir kaynak oluşturabilir. Ancak bu hücrelerin MS lezyonlarındaki immün sistem atağına hedef olmayacaklarına inanmak güçtür.<sup>46</sup>

Multipl skleroz'daki bir diğer engel, hastalığın multifokal ve geniş olmasıdır. Tek bir MS lezyonunun boyutları, kök hücre ya da progenitör hücre transplantasyonunun etkinliğini araştıran hayvan modellerindeki tüm beyin dokusundan daha büyük olabilmektedir. Progenitör hücrelerin tüm insan beynine ve spinal korda yayılarak, çok sayıda ve büyük demiyelinizan plaklara ulaşması ve remiyelinizasyonu sağlaması olası gözükmemektedir. Remiyelinizan progenitör hücrelerin fokal transplantasyonu, tek ya da sadece birkaç lezyonu olan hastalar için uygun bir seçenek olabilir. Bu yaklaşımın, beyin sapı gibi tek bir 'stratejik' bölge lezyonlarında oldukça faydalı olabileceği de düşünülebilir.<sup>46</sup>

### *Sistemik transplantasyon*

Nöronal kök hücrelerinin yüzeylerinde, hematopoetik progenitör hücreleri veya lökositleri andıran adezyon molekülleri ve kemokin reseptörlerinin bulunduğu ortaya konmuştur.<sup>47</sup> Bu nedenle bu hücreler sistemik dolaşıma verildiklerinde dolaşımdan ayrılabilen ve SSS de dahil olmak üzere farklı dokulara yerleşebilmektedirler.<sup>48</sup> Daha da önemlisi, bu hücreler hasarlanmış SSS alanlarına daha fazla yerleşme eğilimindedirler. Hücreler, kan dolaşımına verildikten sonra, muhtemelen kemokin ve sitokinlerin immün sistem üzerindeki etkilerine bağlı olarak, kan beyin bariyerinin hasarlı alanlarına ulaşma kapasitesine sahiptirler.<sup>49</sup> Otoimmün ensefalomiyelit oluşturulan sıçanlarda, intravenöz olarak enjekte edilen nöral kök hücrelerinin inflamatuvar demiyelinizan SSS lezyonlarına göç ettikleri saptanmış olup, bu durum lezyonlardaki patolojik bulgularda ve klinik hastalık şiddetinde azalma ile birliktelik göstermiştir.<sup>48</sup> Bu hücrelerin faydalı etkilerini hangi mekanizma ile gösterdikleri tam olarak bilinmemektedir. Bir kısmı oligodendrositlere dönüşerek miyelinizasyonu sağlarken, diğer bir kısmı da SSS hasarını direkt olarak



engelleyen ve endojen miyelinizasyonu uyaran nörotrofin salgılayarak faydalı etkilerini gösterirler.<sup>48</sup> Nörotrofinler ayrıca direkt immün sistemi baskılayıcı fonksiyona da sahiptirler; örneğin, proinflamatuvar sitokinlerin<sup>48</sup> veya major doku uyuşum kompleksi moleküllerinin ekspresyonunu azaltırlar ya da monositlerin lezyona geçmesini engellerler.<sup>50</sup> Hücrelerin intravenöz yol ile verilmeleri, güvenli ve aynı zamanda beyindeki tüm inflamasyonlu alanlara ulaşmak için tasarlanan diğer birçok metottan daha ucuz olması nedeni ile tercih edilen bir yoldur. Ancak tek başına hücre-bazlı tedavilerin sessiz veya kronik lezyonlarda belirgin düzelme sağlayamayacağı vurgulanmalıdır.<sup>51</sup>

## Hematopoetik kök hücre transplantasyonu

Otolog hematopoetik kök hücre transplantasyonu günümüzde kolaylıkla uygulanabilir bir yöntemdir ve uygun olarak seçilen ağır otoimmün hastalığı olan hastalarda etkili bir tedavidir. MS'de kemik iliği transplantasyonunun klinik etkinliği, ilk olarak, sporadik MS hastalarındaki gözlemlerden ve aynı zamanda malign hastalığı olan/ neoplastik hastalıkları dolayısıyla allojenik, singenik veya otolog transplantasyon yapılan hastaların takibinde MS'in stabilize olması, hatta nörolojik durumlarında iyileşme olması sonucunda gösterilmiştir.<sup>52-54</sup> Ağır ve tedaviye dirençli MS hastalarında otolog transplantasyon ilk kez 1997'de öne sürülmüştür.<sup>55</sup> Tüm dünyada 650'den daha fazla hastada faz I ve II çalışmaları kapsamında transplantasyon uygulanmıştır.<sup>56</sup> Faz I/II klinik çalışmalarda, yüksek doz immüsupressan tedavinin SSS'deki inflamasyonu baskıladığı ve hastalık progresyonunu geciktirdiği gösterilmiştir. Sonuçlar faz III çalışmalarının başlatılmasına güç vermektedir. Ancak, tahmin edildiği üzere, transplantasyona bağlı belirgin morbidite ve mortalite de görülmektedir. Bu komplikasyonlar, transplantasyon esnasındaki hastalık evresi ile ilişkili olmakta ya da enfeksiyonlara bağlı ortaya çıkmaktadır. Kardiyak toksisiteye bağlı ölümler azdır.<sup>56</sup> Transplantasyon öncesi ve sonrasında geniş

kardiyolojik değerlendirme yapılması önerilmektedir. Transplantasyona bağlı ölümler otoimmün hastalığa bağlı olarak değişmekle birlikte %7 olarak saptanmıştır. Transplantasyon sonrası uygulanan yüksek doz immüsupressan tedavinin MS seyri ve atak sıklığı üzerindeki uzun süreli etkileri bilinmemektedir. Ancak yüksek doz tedavi ile bağışıklık sisteminin baskılanması ve transplantasyon ile elde edilen lenfosit progenitörlerinin oluşturduğu normal bağışıklık ve tolerans, immün sisteminin "yeniden" oluşturulduğu izlenimini vermektedir.<sup>55</sup> Transplantasyonun klinik etkisi karşılaştırmalı çalışmalar ile kanıtlanmayı beklemektedir.

Hematopoetik progenitör hücreler otoimmün hastalığı olan hastalarda kusurlu immün sistemi tekrar oluşturabilirler. Hücreler bir kardeşten ya da kan bağı olmayan HLA (human leukocyte antigen) uyumlu (allojenik transplantasyon) bir vericiden ya da aynı hastadan kemoterapi öncesinde (otolog transplantasyon) alınabilir. Hematopoetik progenitör hücreler direkt olarak kemik iliğinden alınabilir veya periferik kandan toplanabilir. Allojenik hematopoetik kök hücre transplantasyonu, otolog hematopoetik kök hücre transplantasyonundan daha fazla mortalite oranlarına sahiptir – eğer verici kardeş değilse bu oran %40'lara ulaşmaktadır.<sup>57</sup> Buna karşın, otolog hematopoetik kök hücre transplantasyonunda mortalite %10'dan azdır.<sup>57</sup>

Otolog hematopoetik kök hücre transplantasyonunun MS seyrini etkileme mekanizması bilinmemektedir ve kuramsal (hipotetik) kalmıştır. Erken dönemdeki etkisinin otoreaktif klonların ortadan kaldırılmasına bağlı olduğu açıktır. Otolog hematopoetik kök hücre transplantasyonu sonrasında, periferik kanda CD4+ hücrelerinde belirgin ve kalıcı düşme olduğu iyi bilinmektedir ve bu MS hastalarında da görülmektedir.<sup>58,59</sup> Kemik iliği transplantasyonu ve hematopoetik kök hücre transplantasyonu 2 yıla kadar sürebilen ve CD4+ hücre sayısında düşme ile şekillenen yaygın ve uzun süreli bir immüsupresyon oluşturmaktadır.



MS patogenezinde önemli rol aldıkları düşünülen otoreaktif T hücre klonlarının silinmesi, otolog hematopoetik kök hücre transplantasyonunun kısa süreli antiinflamatuvar etkisini açıklayabilmektedir. Yeni oluşan T hücreleri, timik ya da periferik şartlandırma tedavisi sırasında hasarlanmış doku antijenlerine maruz kalırlar ve muhtemelen tolerans geliştirirler. Bu nedenle, otolog hematopoetik kök hücre transplantasyonu sadece immünsupressif olarak değil, aynı zamanda immünmodülatuar tedavi olarak da etki göstermektedir. Sonuç olarak, inflamasyon yatıştır, manyetik rezonans görüntüleme (MRG) SSS lezyonları kontrast tutmaz ve bazen oldukça belirgin olan, hatta EDSS skorunda 1-3 puanlık bir gerilemenin eşlik ettiği klinik düzelleme gözlenir. Transplantasyon sonrasındaki süreçte regülatuar T hücre fonksiyonları, sitokin profilleri, stimülatuar ve apoptotik mekanizmaların işleyişine ait herhangi bir bilgi bulunmamaktadır.<sup>55</sup>

Deneyisel otoimmün ensefalomyelit modellerinde otolog hematopoetik kök hücre transplantasyonunu takiben yüksek doz immünsupresan tedavi çalışmaları, Jerusalem, Rotterdam ve Chicago grupları tarafından 1992 yılından beri yoğun bir şekilde uygulanmaktadır.<sup>60-64</sup> Hayvanlarda tüm vücut radyasyonu veya insanlarda uygulanan dozlara eşdeğer yüksek doz busulfan tedavisi uygulanmış ve takibinde allojenik,<sup>65</sup> singenik<sup>60-65</sup> ya da pseudo (yalancı) - otolog kemik iliği<sup>66</sup> transplantasyonu yapılmıştır. Hematopoetik kök hücrelerin her üç kaynağı da deneyisel otoimmün ensefalomyelit'te remisyonu sağlamıştır. Relapsların otolog nakillerde daha sık olduğu görülmüş ve şartlandırma tedavisinde artakalan ya da nakil ile tekrar geri verilen otoreaktif hücrelerin bu duruma yol açtığı düşünülmüştür.<sup>67,68</sup> Hastalığın geç evrelerinde yapıldığı takdirde hematopoetik kök hücre transplantasyonunun başarısız olduğu da gösterilmiştir.<sup>64</sup>

İmmünmodülatuar veya immünsupressif tedavi stratejilerinin ataklarla seyreden ya da erken

sekonder progressif seyir gösteren MS'de bazı faydalı etkilerinin gösterilmesine karşın, bu tedaviler dejeneratif özelliklerin ön planda olduğu ya da belirgin SSS doku hasarının olduğu durumlarda etkisiz bulunmuştur.<sup>51</sup> İmmünsupressif veya immünmodülatuar tedaviler SSS'nde inflamatuvar değişikliklerin ön planda olduğu ve henüz aksonal/nöronal dejenerasyon ile geri dönüşümsüz hasarın oluşmadığı erken evrede verilmelidir (Tablo 1).<sup>55</sup> Yeni tanı konmuş, ilerleyici ataklarla seyreden ve minimal özürüllüğü olan hastaların daha iyi yanıt vermesi beklenmektedir. Ağır özürüllük ile birlikte uzun süreli, ilerlemiş kronik veya primer ilerleyici seyir gösteren hastalarda anlamlı bir fayda beklenmemektedir.<sup>55</sup>

**Tablo 1.** MS'de otolog hematopoetik kök hücre transplantasyonu için önerilen hasta seçim kriterleri.<sup>57</sup>

#### Dahil etme kriterleri

Giderek artan defisiti olan ataklarla seyreden MS

Relapsları olan veya olmayan sekonder progressif MS

18-50 yaş

Mevcut EDSS 3.5-6.5

Son yıl içindeki EDSS artışı

Eğer EDSS 3.5-5.0 arasında ise en az 1.5 puan veya eğer EDSS 5.5 üzerinde ise en az 1.0 puan artış, ya da

Beyin MRG'nde en az bir kontrast tutan lezyonu olan hastalarda EDSS 3.5-5.0 arasında ise en az 1.0 puan veya eğer EDSS 5.5 üzerinde ise 0.5 puan artış

İmmünomodülatuar tedaviye rağmen progresyon

\*ASTIMS çalışmasına göre dahil edilme kriterleri (otolog hematopoetik kök hücre transplantasyonuna karşın mitoksantron tedavisinin etkinliğini ve güvenilirliğini araştıran faz III çalışma).

MS'de ve diğer otoimmün hastalıklarda uzun süreli remisyonların sağlanması için hastadaki hedef organdakiler dahil olmak üzere tüm otoreaktif lenfosit popülasyonunun ortadan kaldırılması ve tekrar verilirken en az miktarda otoreaktif T hücresi varlığı garanti altına alınması gerekmektedir.<sup>57</sup>

İlk çalışmaların sonuçları, transplantasyona bağlı toksisite ve mortalite nedeni ile endişe ile karşılanmış, yaşam süresini belirgin ölçüde etkilemeyen MS gibi bir hastalık için bu riskler çok yüksek bulunmuştur. Prosedürün toksisitesine rağmen, agresif seyirli MS'i olan hastaların

tedavisinde bir seçenek olarak düşünülebilir. Bununla birlikte, verilen hematopoetik kök hücreler potansiyel olarak aynı genetik kusura sahip yeni bir immün sistem oluşturabilirler.<sup>57</sup> MS hastalarında allojenik hematopoetik kök hücre transplantasyonuna dair prospektif veriler bulunmamaktadır.<sup>55</sup>

MS'de otolog hematopoetik kök hücre transplantasyonunun klinik çalışmaları son zamanlarda tekrar gözden geçirilmiştir.<sup>69,70</sup> Bu çalışmalardan iki ana ders çıkartılmıştır:

1. Yüksek doz ablatif tedavi agresif MS hastalarının büyük bir çoğunluğunda yeni lezyon oluşmasını durdurmaktadır.
2. Tedavi esnasında ilerlemiş özüllülüğü olan hastalarda özüllülüğün ilerlemesi sıklıkla devam etmektedir.

Demyelinizasyon alanlarına egzojen hücrelerin nakli ile fonksiyonel remiyelinizasyonun sağlanabileceği değişik çalışmalarda gösterilmiştir.<sup>51</sup> Bu tedavi yönteminde kullanılabilecek birçok pluripotent hücre tipi tanımlanmıştır (Tablo 2). Bunların çoğunun güvenilir ve mevcut klinik durumda düzelmeye neden olan hasarlı miyelin dokusunun tamirinde bir dereceye kadar etkin olabileceği gösterilmiştir.<sup>71</sup> Nakledilen kök hücreler, lokal olarak sağ kalma ve büyüme

faktörlerinin üretimini uyararak oligodendrosit prekürsörleri ve nöronlar üzerinde de pozitif etkiye sahip olabilmektedirler.<sup>72</sup>

BOS'da oligoklonal IgG bantlarının otolog hematopoetik kök hücre transplantasyonu sonrasında da devam ettiği gösterilmiştir.<sup>73-75</sup> Farklı protokoller<sup>73,74</sup> ile uygulanan otolog hematopoetik kök hücre transplantasyonu sonrasında BOS bantlarının halen saptanabiliyor olması, şartlandırma tedavilerinin sinir sistemindeki B ve T hücreleri tamamen yok edemediğini göstermektedir. Bu bulgunun klinik değeri kesin değildir.<sup>57</sup> Nash ve ark.<sup>73</sup> yedi merkezde yürütülen faz II çalışmasına dahil edilen 26 hastayı incelemişlerdir. Çalışmacılar, yaygın T-hücre baskılanması ile birlikte yoğun immünsupresyon nedeniyle (tüm vücut radyasyonu ve siklofosamid) Epstein-Barr virüs ile ilişkili lenfoproliferatif hastalık riskinin de belirgin olarak arttığını bildirmişlerdir.

Elimizdeki veriler, yoğun şartlandırma (miyelo-ablatif) tedavilerinin, MS'de akut inflamasyonu yansıtan lokal kan-beyin bariyeri yıkımını tamamen baskılayabildiğini kanıtlamaktadır. Otolog hematopoetik kök hücre transplantasyonunun, MRG'nde inflamatuvar bulgular üzerinde etkin olmasına karşın, dejeneratif süreci durduramadığı anlaşılmaktadır. Bu çalışmaların

**Tablo 2.** MS'de miyelin ve akson tamirini artırmaya yönelik hücre-bazlı tedavi yaklaşımları.<sup>51</sup>

Hücre tipi	Kaynak	Farklılaşma/terapötik potansiyeli
Embriyonik kök hücreler	Gelişmekte olan embriyonun iç hücre tabakasından izolasyon	Tüm embriyonik ve erişkin hücre tiplerine dönüşebilir. Somatik nükleer transfer stratejileri kullanılarak immünokompetan hücreler elde edilebilir
Nöral prekürsör hücreler	Gelişmekte olan embriyonun tüm bölgelerinden elde edilebilen multipotent hücreler	In vitro koşullarda oligodendrosit, astrosit ve nöronlara dönüştürülebilir. Radyasyon almış hayvanlara verildiklerinde, in vivo koşullarda tüm kan hücre serilerine dönüşme kapasiteleri de bulunmaktadır
Erişkin nöral kök hücreler	Erişkin ak ve gri maddesi içerisinde bulunan nispeten küçük hücre popülasyonu	Bu hücreler yüksek çoğalma potansiyeline sahiptirler ve herhangi bir nöron hücrelerine dönüşebildiği düşünülmektedir.
Erişkin kemik iliği kök hücreleri	Kemik iliği otolog hematopoetik ve mezenkimal kök hücreleri için ulaşılabilir bir kaynaktır	Bu hücreler, beyin dahil olmak üzere birçok diğer organ hücrelerine, çok yüksek farklılaşma potansiyeline sahiptir



hiçbirisi otolog transplantasyon öncesindeki yıllık beyin atrofisini değerlendirmediklerinden, bu tedavinin beyin atrofi üzerindeki etkisi bilinmemektedir.<sup>76</sup> İki ayrı çalışma grubu hematopoetik kök hücre transplantasyonu yapılan MS hastalarında, toplam beyin volümünde azalmanın devam ettiğini göstermişlerdir.<sup>73,77</sup> Fassas ve ark.<sup>78</sup> da güçlü antiinflamatuvar etkiye karşın, beyin atrofi indekslerinin (korpus kallozum alanı, üçüncü ve lateral ventrikül genişlikleri) transplantasyon sonrası 12. ve 24. aylarda kötüleşmeye devam ettiğini bildirmişlerdir. Kontrol grubu olmadığı için araştırmacılar hematopoetik kök hücre transplantasyonunun beyinde atrofi gelişimi üzerinde faydalı, faydasız ya da zararlı olup olmadığı konusuna açıklık getirememektedirler. Bu gözlemler, bu tedavi ile inflamasyonun durdurulmasının; oligodendroglial ve/veya aksonal dejenerasyona bağlı ortaya çıkan belirgin klinik kötüleşme üzerinde anlamlı etkisi olmadığını düşündürmektedir.<sup>51</sup>

Cevaplanmamış diğer bir önemli soru, dejeneratif hastalık sürecinin engellenmesi için, inflamatuvar hastalık aktivitesinin, hastalığın hangi evresinde ortadan kaldırılması gerektiğidir. Bugüne kadar yürütülen klinik çalışmalarda hematopoetik kök hücre transplantasyonu sekonder progressif, ileri derecede özürüllüğü (EDSS 6.0 ve üzerinde) olan hastalarda uygulanması nedeniyle, mevcut bilgiye dayanarak **“en uygun zamanlama”** açısından kesin bir bilgi bulunmamaktadır.<sup>51,79</sup>

Otolog hematopoetik kök hücre transplantasyonu sonrası MS’de izlenen toksisite ve mortalite diğer hematolojik kanserler ve solid tümörlerde gözlenene benzerdir. EBMT çalışması (European Group for Blood and Marrow Transplantation) bugüne kadar yayınlanan en detaylı seridir.<sup>80</sup> Transplantasyona bağlı yan etkiler ve komplikasyonlar Tablo 3’de özetlenmiştir. Transplantasyona bağlı mortalite değişik çalışmalarda farklı oranlarda bildirilmekle birlikte, EBMT analizinde %6 olarak saptanmıştır.<sup>55</sup>

**Tablo 3.** Transplantasyona bağlı yan etkiler ve komplikasyonlar.<sup>56,70,78,84</sup>

- Kardiyotoksisite
  - Akut kardiyak hemorajik nekroz
  - Kardiyak yetmezlik
- Hematolojik komplikasyonlar
  - Kanama
  - Edinsel hemofili
  - Trombotik trombositopenik purpura
- Enfeksiyonlar
  - İnvaziv mantar enfeksiyonları
  - Viral reaktivasyonlar
  - Serebral aspergilloz
  - Septisemi
  - Viral pnömoni
  - Streptokok septisemisi
- Hepatik toksisite
- Hepatik venooklüzif hastalık
- Dermatomiyozit
- MS alevlenmeleri (enfeksiyonlara sekonder)

MS’de mevcut tedaviler ile (örneğin mitoksantron) randomize edilerek yada çift-kör tamamlanmış otolog hematopoetik kök hücre transplantasyon çalışması bulunmamaktadır. Umut verici bazı klinik sonuçlara karşın,<sup>73,80</sup> bu tedavinin klinik etkinliği tek-kollu faz II çalışmalarının sonuçları ile uygun bir şekilde değerlendirilememektedir. Bu nedenle, en önemli soru olan **“bu tedavinin hastalığın progresif seyri üzerinde düzenleyici etkileri olup olmadığı”** henüz cevaplanmamıştır. Deneysel bir tedavinin etkinliğini gösterilmesi açısından MS oldukça komplike bir hastalıktır. Yeni tedaviler, özellikle hastalar tarafından genellikle iyimser bir yaklaşım ile karşılanmakta ve klinik nörolojik değerlendirmeleri etkileyebilmektedir. Bu nedenle, eğer varsa, hematopoetik kök hücre transplantasyonunun MS’i stabilize etme ve özürüllüğün ilerlemesini durdurma açısından etkinliğinin gösterilmesi için, karşılaştırmalı, randomize çalışmalara gereksinim vardır. EBMT’nin Otoimmün Hastalıklar Çalışma Grupları (Autoimmune Disease Working Party) kötü prognoz kriterlerini tam olarak karşılayan sekonder progressif (SP) veya ataklarla seyreden MS hastalarında prospektif, randomize bir çalışma başlatmışlardır. Otolog hematopoetik kök hücre transplantasyonu adayları, konvansiyonel tedavinin başarılı olmadığı, sık ataklar, EDSS skorunda



hızlı bir ilerleme ve MRG'de gadolinum tutan lezyonların olması ile karakterize genç olgulardır. Fulminan seyirli hastalığı olan ve EDSS skoru 6.5'in altında olan, MRG'de SSS'nde inflamatuvar aktivitenin kanıtları olan SP-MS hastaları da otolog hematopoetik kök hücre transplantasyonu için aday olarak önerilmektedir. Buna karşın, SSS'nde geri dönüşümsüz hasar ya da akson kaybının inflamasyondan bağımsız bir şekilde devam ettiği, (örneğin primer progressif MS), yüksek EDSS skoru olan veya uzun süreli hastalığı olup inflamatuvar süreçten ziyade nörodejeneratif sürecin ön planda seyrettiği MS tiplerinde bu tedavinin hastalık progresyonu üzerine etkisi muhtemelen olmayacaktır.<sup>81-83</sup>

#### KAYNAKLAR

1. Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG. Multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2000;343:938-52.
2. Trapp BD, Peterson J, Ransohoff RM, Rudick R, Mörk S, Bö L. Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 1998;338:278-85.
3. Weinshenker BG, Bass B, Rice GP, et al. The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. I. Clinical course and disability. *Brain.* 1989;112:133-46.
4. Waxman SG. Demyelinating diseases – new pathological insights, new therapeutic targets. *N Engl J Med.* 1998;338:323-5.
5. Trapp BD, Ransohoff RM, Fisher E, Rudick RA. Neurodegeneration in multiple sclerosis: relationship to neurological disability. *Neuroscientist.* 1999;5:48-57.
6. Raine CS, Ru E. Multiple sclerosis: remyelination in acute lesions. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1993;52:199-204.
7. Lucchinetti C, Bruck W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassmann H. A quantitative analysis of oligodendrocytes in multiple sclerosis lesions: a study of 113 cases. *Brain.* 1999;122:2279-95.
8. Watanabe M, Toyama Y, Nishiyama A. Differentiation of proliferated NG2-positive glial progenitor cells in a remyelinating lesion. *J Neurosci Res.* 2002;69:826-36.
9. Dawson MRL, Politio A, Levine JM, Reynolds R. NG2-expressing glial progenitor cells: an abundant and widespread population of cycling cells in the adult rat CNS. *Mol Cell Neurosci.* 2003;24:476-88.
10. Prineas JW, Barnard RO, Kwon EE, Sharer LR, Cho S. Multiple sclerosis: remyelination of nascent lesions. *Ann Neurol.* 1993;33:137-151.
11. Perier O, Gregoire A. Electron microscopic features of multiple sclerosis lesions. *Brain.* 1965;88:937-952.
12. Zhao C, Fancy SPJ, Kotter MR, Li WW, Franklin RJM. Mechanisms of CNS remyelination—the key to therapeutic advances. *J Neurol Sci.* 2005;233:87-91.
13. Bieber AJ, Kerr S, Rodriguez M. Efficient central nervous system remyelination requires T cells. *Ann Neurol.* 2003;53:680-4.
14. Mason JL, Suzuki K, Chaplin DD, Matsushima GK. Interleukin-1beta promotes repair of the CNS. *J Neurosci.* 2001;21:7046-52.
15. Arnett HA, Mason J, Marino M, Suzuki K, Matsushima GK, Ting JPY. TNF $\alpha$  promotes proliferation of oligodendrocyte progenitors and remyelination. *Nat Neurosci.* 2001;4:1116-22.
16. Bunge MB, Bunge RP, Ris H. Ultrastructural study of remyelination in an experimental lesion in the adult cat spinal cord. *J Biophys Biochem Cytol.* 1961;10:67-94.
17. Halfpenny C, Benn T, Scolding N. Cell transplantation, myelin repair, and multiple sclerosis. *Lancet Neurology.* 2002;1:31-40.
18. Fulton B, Burne JF, Raff MC. Visualization of O-2A progenitor cells in developing and adult rat optic nerve by quisqualate-stimulated cobalt uptake. *J Neurosci.* 1992;12:4816-4833.
19. Pringle N, Mudha HS, Collarini EJ, Richardson WD. PDGF receptors in the rat CNS: during late neurogenesis, PDGF-alpha receptor expression appears to be restricted to glia cells of the oligodendrocyte lineage. *Development.* 1992;115:535-551.
20. Wolswijk G. Chronic Stage Multiple Sclerosis Lesions Contain a Relatively Quiescent Population of Oligodendrocyte Precursor Cells. *J Neurosci.* 1998;18(2):601-609.
21. Carroll WM, Jennings AR. Early recruitment of oligodendrocyte precursors in CNS demyelination. *Brain.* 1994;117:563-78.
22. Duncan ID, Grever WE, Zhang SC. Repair of myelin disease: strategies and progress in animal models. *Mol Med Today.* 1997;3:554-61.
23. Wolswijk G. Oligodendrocyte survival, loss and birth in lesions of chronic-stage multiple sclerosis. *Brain.* 2000;123:105-15.
24. Scolding NJ, Franklin RJM. Remyelination in demyelinating disease. *Clinical Neurology. International Practice and Research.* 1999;6:525-48.
25. Scolding NJ, Franklin RJM, Stevens S, Heldin CH, Compston DAS, Newcombe J. Oligodendrocyte progenitors are present in the normal adult human CNS and in the lesions of multiple sclerosis. *Brain.* 1998;121:2221-28.
26. Chang A, Nishiyama A, Peterson J, Prineas J, Trapp BD. NG2-positive oligodendrocyte progenitor cells in adult human brain and multiple sclerosis lesions. *J Neurosci.* 2000;20:6404-12.
27. Maeda Y, Solansky M, Meonna J, Chapin J, Li W,



- Dowling P. Platelet-derived growth factor- $\alpha$  receptor-positive oligodendroglia are frequent in multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 2001;49:776-85.
28. Lucchinetti CF, Brück W, Rodriguez M, Lassmann H. Distinct patterns of multiple sclerosis pathology indicates heterogeneity in pathogenesis. *Brain Pathol* 1996;6:243-258.
29. Prineas JW, McDonald WI. Demyelinating diseases. In: Greenfield's neuropathology, Ed 6 (Graham DI, Lantos PL, eds), London: Arnold, 1997, pp 813-889.
30. Brown D, Gatter KC. Monoclonal antibody Ki67; its use in histopathology. *Histopathology* 1990;17:489-503.
31. Chang A, Tourtellotte WW, Rudick R, Trapp BD. Premyelinating oligodendrocytes in chronic lesions of multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2002;346:165-73.
32. Woodroffe MN, Cuzner ML. Cytokine mRNA expression in inflammatory multiple sclerosis lesions: detection by non-radioactive in situ hybridization. *Cytokine* 1993;5:583-588.
33. McKinnon RD, Piras G, Ida Jr JA, Dubois-Dalcq M. A role for TGF- $\beta$  in oligodendrocyte differentiation. *J Cell Biol* 1993;121:1397-1407.
34. Argesti C, D'Urso D, Levi G. Reversible inhibitory effects of interferon-gamma and tumor necrosis factor- $\alpha$  on oligodendrocyte lineage cell proliferation and differentiation in vitro. *Eur J Neurosci* 1996;8:1106-1116.
35. Chabas D, Baranzini SE, Mitchell D, Bernard CC, Rittling SR, Denhardt DT, Sobel RA, Lock C, Karpuj M, Pedotti R, Heller R, Oksenberg JR, Steinman L. The influence of the proinflammatory cytokine, osteopontin, on autoimmune demyelinating disease. *Science* 2001;294:1731-5.
36. Orkin SH, Zon LI. Hematopoiesis and stem cells: plasticity versus developmental heterogeneity. *Nat Immunol* 2002;3:323-8.
37. Blakemore F, Franklin RJM. Transplantation of glial cells in the CNS. *Trends Neurosci* 1991;14:323-327.
38. Groves AK, Barnett SC, Franklin RJM, Crang AJ, Mayer M, Blakemore WF, Noble M. Repair of demyelinated lesions by transplantation of purified O-2A progenitor cells. *Nature* 1993;362:453-455.
39. Archer DR, Cuddon PA, Lipsitz D, Duncan JD. Myelination of the canine central nervous system by glial cell transplantation: a model for repair of human myelin disease. *Nat Med* 1997;3:54-59.
40. Brustle O. Building brains: neural chimeras in the study of nervous system development and repair. *Brain Pathol* 1999;9:527-45.
41. Keirstead HS, Blakemore WF. The role of oligodendrocytes and oligodendrocyte progenitors in CNS remyelination. *Adv Exp Med Biol* 1999;468:183-97.
42. Morrison SJ. Stem cell potential: can anything make anything? *Curr Biol* 2001;11:R7-9.
43. Wernig M, Brustle O. Fifty ways to make a neuron: shifts in stem cell hierarchy and their implications for neuropathology and CNS repair. *J Neuropathol Exp Neurol* 2002;61:101-10.
44. Learish RD, Brustle O, Zhang SC, Duncan ID. Intraventricular transplantation of oligodendrocyte progenitors into a fetal myelin mutant results in widespread formation of myelin. *Ann Neurol* 1999;46:716-22.
45. Blakemore WF, Franklin RJ. Transplantation options for therapeutic central nervous system remyelination. *Cell Transplant* 2000;9:289-94.
46. Lassmann H. Stem cell and progenitor cell transplantation in multiple sclerosis: The discrepancy between neurobiological attraction and clinical feasibility. *J Neurol Sci* 2005;233:83-86.
47. Luo Y, Cai J, Liu Y et al. Microarray analysis of selected genes in neural stem and progenitor cells. *J Neurochem* 2002;83:1481-97.
48. Pluchino S, Quattrini A, Brambilla E, Gritti A, Salani G, Dina G, et al. Injection of adult neurospheres induces recovery in a chronic model of multiple sclerosis. *Nature* 2003;422:688-94.
49. Chu K, Kim M, Jeong SW, Kim SU, Yoon BW. Human neural stem cells can migrate, differentiate, and integrate after intravenous transplantation in adult rats with transient forebrain ischemia. *Neurosci Lett* 2003;343:129-33.
50. Flugel A, Matsumoro K, Neumann H, Klinkert WE, Birnbacher R, Lassmann H, et al. Anti inflammatory activity of nerve growth factor in experimental autoimmune encephalomyelitis: inhibition of monocyte transendothelial migration. *Eur J Immunol* 2001;31:11-22.
51. Muraro PA, Cassiani-Ingoni R, Martin R. Using stem cells in multiple sclerosis therapies. *Cytotherapy* 2004;6:615-620.
52. McAllister LD, Beatty PG, Rose J. Allogeneic bone marrow transplant for chronic myelogenous leukemia in a patient with multiple sclerosis. *Bone Marrow Transplant* 1997;19:395-7.
53. Meloni G, Salvetti M, Cordone I, Mancini M, Mandelli F. Autologous peripheral blood stem cell transplantation in a patient with multiple sclerosis and concomitant Ph+ acute leukemia. *Haematologica* 1999;84:665-7.
54. Mandalfino P, Rice G, Smith A, Klein JL, Rystedt L, Ebers GC. Bone marrow transplantation in multiple sclerosis. *J Neurol* 2000;247: 691-5.
55. Fassas A. Multiple sclerosis. *Best Practice & Research Clinical Haematology* 2004;17:247-262.
56. Saccardi R, Tyndall A, Coghlan G, Denton C, Edan G, Emdin M, et al. Consensus statement concerning



- cardiotoxicity occurring during haematopoietic stem cell transplantation in the treatment of autoimmune diseases, with special reference to systemic sclerosis and multiple sclerosis. *Bone Marrow Transplantation* 2004;34:877-881.
57. Blanco Y, Saiz A, Carreras E, Graus F. Autologous haematopoietic-stem-cell transplantation for multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2005;4:54-63.
  58. Fassas A, Anagnostopoulos A, Kazis A, et al. Peripheral blood stem cell transplantation in the treatment of progressive multiple sclerosis: first results of a pilot study. *Bone Marrow Transplantation* 1997;20:631-638.
  59. Burt RK, Traynor AE, Pope R, et al. Treatment of autoimmune disease by intense immunosuppressive conditioning and autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 1998; 92:3505-3514.
  60. Karussis DM, Slavin S, Ben-Nun A, et al. Chronic-relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis (CR-EAE): treatment and induction of tolerance, with high dose cyclophosphamide followed by syngeneic bone marrow transplantation. *Journal of Neuroimmunology* 1992;39:201-210.
  61. Karussis DM, Vourka-Karoussis U, Lehmann D, et al. Prevention and reversal of adoptively transferred, chronic relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis with a single high dose cytoreductive treatment followed by syngeneic bone marrow transplantation. *Journal of Clinical Investigation* 1993;92:765-772.
  62. Karussis D, Vourka-Karussis U, Mizrachi-Koll R & Abramsky O. Acute/relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis: induction of long lasting, antigen-specific tolerance by syngeneic bone marrow transplantation. *Multiple Sclerosis* 1999;5:17-21.
  63. van Gelder M, Kinwell-Bohre EPM & van Bakkum DW. Treatment of experimental allergic encephalomyelitis in rats with total body irradiation and syngeneic BMT. *Bone Marrow Transplantation* 1993;11:233-241.
  64. Burt RK, Padilla J, Begolka WS, et al. Effect of disease stage on clinical outcome after syngeneic bone marrow transplantation for relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis. *Blood* 1998;91:2609-2616.
  65. van Gelder M & van Bakkum DW. Treatment of relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis in rats with allogeneic bone marrow transplantation from a resistant strain. *Bone Marrow Transplantation* 1995;16:343-351.
  66. van Gelder M & van Bakkum DW. Effective treatment of relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis with pseudoautologous bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 1996;18:1029-1034.
  67. van Bakkum DW. New opportunities for the treatment of severe autoimmune diseases: bone marrow transplantation. *Clinical Immunology and Immunopathology* 1998;89:1-10.
  68. van Gelder M, Mulder AH, van Bakkum DW. Treatment of relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis with largely MHC-matched allogeneic bone marrow transplantation. *Transplantation* 1996;62:810-18.
  69. Muraro PA, Cassiani Ingoni R, Martin R. Hematopoietic stem cell transplantation for multiple sclerosis: current status and future challenges. *Curr Opin Neurol* 2003;16:299-305.
  70. Fassas A, Kimiskidis VK. Stem cell transplantation for multiple sclerosis: what is the evidence? *Blood Rev* 2003;17:233-40.
  71. Pluchino S, Furlan R, Martino G. Cell-based remyelinating therapies in multiple sclerosis: evidence from experimental studies. *Curr Opin Neurol* 2004;17:247-55.
  72. Lu P, Jones LL, Snyder EY, Tuszynski MH. Neural stem cells constitutively secrete neurotrophic factors and promote extensive host axonal growth after spinal cord injury. *Exp Neurol* 2003;181:115-29.
  73. Nash RA, Bowen JD, McSweeney PA et al. High-dose immunosuppressive therapy and autologous peripheral blood stem cell transplantation for severe multiple sclerosis. *Blood* 2003;102:2364-72.
  74. Openshaw H, Lund BT, Kashyap A, et al. Peripheral blood stem cell transplantation in multiple sclerosis with busulfan and cyclophosphamide conditioning: report of toxicity and immunological monitoring. *Biol Blood Marrow Transplant* 2000;6:563-75.
  75. Saiz A, Carreras E, Berenguer J, et al. MRI and CSF oligoclonal bands after autologous hematopoietic stem cell transplantation in MS. *Neurology* 2001;56:1084-89.
  76. Jager HR, Williams EJ, Savage DG, et al. Assessment of brain changes with registered MR before and after bone marrow transplantation for chronic myeloid leukemia. *AJNR Am J Neuroradiol* 1996;17:1275-82.
  77. Inglese M, Mancardi GL, Pagani E et al. Brain tissue loss occurs after suppression of enhancement in patients with multiple sclerosis treated with autologous haematopoietic stem cell transplantation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004;75:643-4.
  78. Fassas A, Kimiskidis VK. Autologous hemopoietic stem cell transplantation in the treatment of multiple sclerosis: rationale and clinical experience. *J Neurol Sci* 2004;223:53-58.
  79. Burt RK, Cohen BA, Russell E et al. Hematopoietic stem cell transplantation for progressive multiple sclerosis: failure of a total body irradiation-based conditioning regimen to prevent disease progression in patients with high disability scores. *Blood* 2003;102:2373-8.
  80. Fassas A, et al., for the Autoimmune Disease Working Party of the EBMT (European Group for Blood and Marrow Transplantation). Hematopoietic stem cell transplantation for multiple sclerosis: a retrospective



- 
- multicenter study. J Neurol 2002;249:1088-97.
81. Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. Lancet 2002;359:1221-31.
  82. Coles AJ, Wing MG, Molyneux P, Paolillo A, Davie CM, Hale G, et al. Monoclonal antibody treatment exposes three mechanisms underlying the clinical course of multiple sclerosis. Ann Neurol 1999;46:296-304.
  83. Confavreux C, Vukusic S, Moreau T, Adeleine P. Relapses and progression of disability in multiple sclerosis. N Engl J Med 2000;343:1430-8.
  84. Goldberg MA, Antin JH, Guinan EC, Rapoport JM. Cyclophosphamide cardiotoxicity: an analysis of dosing as a risk factor. Blood 1986;68:1114-1118.