

CASO CLINICO

Trapianto autologo di cellule staminali periferiche in un paziente con sclerosi sistemica diffusa: nostra esperienza*

Autologous peripheral stem cell transplantation in a patient with diffuse systemic sclerosis: our experience

F. Giorgetti, M.L. Minnucci, P. Santori, L. Ercoli, M. Rossi, M. Del Papa,
G. Morico, P. Squadroni, A. Olivieri¹, R. Centurioni

U. O. Medicina Interna con Sezione di Camere a bassa carica microbica per il trattamento delle emopatie acute,
Presidio Ospedaliero di Civitanova Marche (MC)

¹Clinica di Ematologia, Università degli Studi di Ancona

SUMMARY

The diffuse form of systemic sclerosis (SSc) can often lead to a rapidly progressive course with the involvement of the visceral organs which causes a severe prognosis. The 5-years cumulative mortality is between 30 and 60%, depending on the clinic form at the onset. Until now, no drug treatment has been proved to be efficacious against the progression of the disease or the regression of the fibrosis. Recently autologous peripheral blood stem cell (PBSC) transplantation has been found to be promising.

We introduce the case of a patient, male, 56 years old, who came under our observation on February 2001, suffering from a SSc with a severe multisystem involvement of lungs, skin, heart and gastrointestinal tract, and a positive antibodies anti-Scl-70. The 8 months therapy, at first with iloprost and cyclophosphamide, then with bolus of cyclophosphamide, was ineffective, with a rapid worsening of the cutaneous and pulmonary involvement. Under the patient agreement we decided to carry out an autologous PBSC transplantation. On December 2001, we obtained the PBSC mobilization after the administration of cyclophosphamide and lenograstim and the PBSC recovery with two leucoapheresis procedures. On February 2002, we gave the conditioning therapy with: thiotepa, cyclophosphamide, fludarabine, rabbit antilymphocytic globulin; then we made the infusion of PBSC. The bone marrow recovery (GN >500 and PLT >20.000) arrived at the day + 10. For three months after the transplantation we made an antibacterial, antiviral and antifungal prophylaxis with valaciclovir, co-trimoxazole and fluconazole.

The one-year follow-up has shown an essentially good response with the improving of the skin involvement and of the subjective indicators of the disease, while the pulmonary involvement don't seen modified from the high dose therapy.

Reumatismo, 2004; 56(1):51-56

INTRODUZIONE

La sclerodermia è una malattia multisistemica caratterizzata da attivazione abnorme del sistema immunitario, alterazioni dei piccoli vasi sanguigni, fibrosi cutanea e degli organi interni. Dal

punto di vista classificativo la sclerodermia si distingue in una forma localizzata, una forma generalizzata o sclerosi sistemica (SSc), le forme associate ad altre connettiviti (cosiddette sindromi overlap) e i quadri sclerodermici indotti da sostanze tossiche. La SSc, in base all'estensione delle lesioni cutanee, viene distinta in diffusa e lineare (1).

Nella forma diffusa il decorso è rapidamente inaggravante. Fattori prognostici negativi sono la positività per anti-Scl70, l'interessamento degli apparati polmonare, cardiaco e renale. In base al quadro clinico alla presentazione la mortalità complessiva a cinque anni è tra il 30 e il 60%.

Nessun trattamento farmacologico si è dimostrato

*Lavoro premiato al XXXIX Congresso SIR, Bari 2002

Indirizzo per la corrispondenza:

Dott. Francesco Giorgetti

U.O. Medicina Interna, Ospedale Civile, Contrada S. Domenico 132

62012 Civitanova Marche (MC)

e-mail: fgiorgetti@libero.it

finora efficace nel contrastare la progressione della malattia o nel far regredire la fibrosi, compreso la utilizzazione di farmaci ad azione citotossica-immunosoppressiva come methotrexate o ciclofosfamide (2-6).

Negli ultimi anni sono sempre più numerose le osservazioni su un possibile ruolo dell'autotrapianto di cellule staminali periferiche nella cura delle patologie autoimmuni, compresa la sclerosi sistemica diffusa (7-11).

CASO CLINICO

G.S., anni 56, maschio, altezza 180 cm, peso Kg 95. Anamnesi lavorativa di minatore, poi operaio. All'età di 30 anni diagnosi di silicosi, di cui però manca la documentazione. Comunque successivi esami radiologici del torace non sembrano confermare la diagnosi.

A 34 aa. comparsa di febbre, tumefazione dolorosa alle mani, astenia. Venne posta diagnosi di "probabile collagenopatia" (positività degli indici di flogosi, negatività di anticorpi anti-nucleo e fattore reumatoide, non disponibile allora la determinazione degli anti-ENA). La terapia steroidea indusse un rapido miglioramento; la stessa venne poi proseguita per due anni a basso dosaggio. All'epoca l'attività lavorativa del paziente consisteva nella immersione di materiale ferroso in olio minerale, per cui è suggestivo pensare che possa essersi trattato di una sclerodermia da contatto con oli minerali.

Dal 1995 diabete mellito di tipo II in trattamento con ipoglicemizzanti orali.

Nell'autunno del 2000 comparsa di una sintomatologia caratterizzata da fenomeno di Raynaud alle mani, sclerosi alle estremità, astenia.

Il paziente venne ricoverato nella nostra U.O. a gennaio 2001.

All'ingresso l'obiettività era caratterizzata da sclerosi cutanea a carico del volto, del torace, degli avambracci e delle mani e dei piedi; erano anche presenti alcune lesioni ischemiche alle mani.

Gli accertamenti ematochimici mostravano la normalità degli indici di flogosi e della funzionalità epatica e renale. Negativi anche gli anticorpi anti-nucleo e anti-DNA come pure il fattore reumatoide, mentre la determinazione degli anti-ENA risultò positiva per SSA e per Scl-70.

Dal punto di vista strumentale lo studio del torace mediante radiografia convenzionale e TC ad alta risoluzione non evidenziava alterazioni del parenchima.

La sat.O₂ era pari a 96.1% con pO₂ pari a 75 mmHg mentre la spirometria evidenziava la presenza di una insufficienza respiratoria di tipo restrittivo (FVC 76%, FEV1 3,25) con spiccata riduzione della DLCO (33% del valore predittivo).

A livello cardiaco l'ECG mostrava un ritmo bigemino ventricolare, peraltro asintomatico, mentre l'ecocardiogramma evidenziava una frazione di eiezione (FE) pari al 58% e la pressione in arteria polmonare (PAPs) pari a 25 mmHg.

A livello esofageo era presente reflusso gastroesofageo con una esofagite di grado I.

Alla capillaroscopia evidenza di quadro compatibile con early scleroderma pattern.

Lo skin score secondo Rodman modificato era pari a 18.

La diagnosi fu quindi di sclerosi sistemica diffusa. Visto la rapida evoluzione del processo venne intrapresa terapia con ciclofosfamide 100mg/die per os, prednisone 10mg/die (per il contemporaneo diabete), ilprost in infusione continua per 14 giorni e poi alla dose di 0,025 mg/die per 8 giorni al mese.

Una rivalutazione condotta dopo 4 mesi mostrava un peggioramento della DLCO (24%) e lieve riduzione della sat.O₂ (95%) con incremento della sclerosi cutanea (skin score 22) per cui si iniziò la somministrazione di boli di ciclofosfamide (650mg/m² ogni 15 giorni) e prednisone (1grammo/mese, sospeso dopo due mesi per peggioramento del diabete), proseguendo anche la somministrazione dell'ilprost.

Nonostante tale terapia la malattia mostrava ancora tendenza evolutiva soprattutto intesa come incremento della sclerosi cutanea (skin score di 26) e peggioramento della funzionalità polmonare. I valori di DLCO erano sostanzialmente invariati, ma vi era un peggioramento dei valori di FVC e di pO₂ (Tab. I). La TC ad alta risoluzione del polmone rimaneva negativa. Una scintigrafia polmonare con Gallio 67 mostrava alcune aree di tenue ipercaptazione del tracciante compatibili con un quadro di interstiziopatia in fase di modesta attività. Lo studio fenotipico linfocitario del lavaggio broncoalveolare evidenziava accanto ad un incremento della quota dei polimorfonucleati, un profilo fenotipico linfocitario caratterizzato da riduzione delle cellule T CD4+ e da incremento di quelle CD8+, metà delle quali coesprimevano l'antigene HLA-DR.

D'accordo con il paziente, e dopo aver ottenuto la approvazione del Comitato Etico locale, si iniziarono le procedure per la effettuazione di un autotrapianto di cellule staminali periferiche.

Tabella I - Variazione degli indici di attività della malattia.

Tempo (mesi)	-12	-8	-4	0	3	6	9	12
data	feb-01	giu-01	ott-01	feb-02	mag-02	ago-02	nov-02	feb-03
Skin score (Rodnan mod.)	17	22	26	28	24	23	16	15
HAQ	16	16	16	18	16	13	16	16
Euroquol thermometer	50	50	45	40	40	45	60	55
pCO ₂ (mmHg)	37.2	35.3	32.3	30.5	32	28.7	25.5	29
pO ₂ (mmHg)	75.3	72.1	67.4	66.8	65.0	62.4	56.7	46.2
Saturazione O ₂ %	96.1	95.7	94.8	94.5	96.0	93.8	91.0	86.2
FVC (litri)	3.63	3.34	2.99	2.9	2.99	2.80	2.47	3.07
DLCO (% pred.)	33	24	26	27	27	26	25	25
FE cuore %	65	60	42	45	57	60	61	51
PAPs (mmHg)	30	28	30	28	32	35	40	49
anti-Scl70 (UE/ml)	57		36		29	0		0
Linfociti/mmc	3800			2658	1029	1938		2176
Slg tot (mg/dl)	650			584	360	969		870
CD3-CD4/mmc	1850			1476	659	136		196

La mobilitazione avveniva nel dicembre 2001 previa infusione di ciclofosfamide 3 grammi/m² seguita da G-CSF (lenograstim) 300 mg/die dal giorno +3 fino alla raccolta delle PBSC eseguita nei giorni +14 e +15 con la effettuazione di due leucoferesi. La quota di cellule staminali CD34+ raccolte era di 8,2 X 10⁶/Kg.

Nel febbraio 2002, previo ricovero in camera a bassa carica microbica, venne eseguito l'autotrapianto.

Il regime di condizionamento prescelto fu il seguente:

- tiotepa 5 mg/kg X 2 al giorno -6;
- ciclofosfamide 15 mg/kg al giorno -4;
- fludarabina 30 mg/m² ai giorni -4, -3, -2;
- infusione di 8 X 10⁶/kg di PBSC al giorno 0;
- globulina antilinfocitaria di coniglio 3,75 mg/kg X 2 ai giorni +1 e +2.

Dal giorno +5 stimolazione con G-CSF (lenograstim 300 mg) fino al recupero ematologico (g. neutrofili >500 e >1000 ai giorni +10 e +11 rispettivamente; piastrine >20.000 e >50.000 ai giorni +10 e +13).

La fase aplastica decorse senza complicanze; il fabbisogno trasfusionale consisté nella somministrazione di n° 2 Unità di Globuli Rossi concentrati e di n° 2 Unità di piastrine da aferesi da singolo donatore irradiate per prevenire l'insorgenza di graft versus host disease.

Nei tre mesi successivi venne praticata profilassi antivirale (valaciclovir 500mg X 2), antibatterica (cotrimossazolo 160/800mg X 2 per 3 giorni la settimana) e antifungina (fluconazolo 200mg).

RISULTATI

Il follow up è ad un anno dal trapianto. Durante questo periodo non si sono avute complicanze infettive nonostante il livello di linfociti CD4+ sia ancora estremamente basso (196/mmc).

Dal punto di vista laboratoristico permane la positività degli anticorpi anti-SSA mentre quelli anti-Scl70 si sono negativizzati dopo 6 mesi e permangono tuttora tali.

La funzionalità respiratoria ha mostrato una lieve riduzione del valore predittivo della DLCO (25% contro il 27% della valutazione prima del trapianto); più consistente la riduzione della sat.O₂ (da 94.8% a 86.2%) tanto che da alcuni mesi il paziente è in trattamento con O₂ liquido.

Sorprendente invece l'andamento dello skin score, che è regredito da 28 a 15, valore migliore di quello della prima osservazione (tabella I); in particolare la sclerosi del volto, del tronco e delle gambe è completamente regredita. La funzionalità cardiaca mostra la stazionarietà della frazione di eiezione mentre la PAPs è incrementata da 30 a 49 mmHg. La qualità di vita è stata poi analizzata mediante l'Health assesment questionnaire (HAQ) e l'Euroquol thermometer: il primo è rimasto invariato mentre il secondo è migliorato da un punteggio di 40 a 55.

DISCUSSIONE

L'ipotesi patogenetica più accreditata riguardo l'insorgenza della SSc presume che su un substrato di

predisposizione genetica vi sia uno stimolo ambientale che induce attivazione del sistema immunitario, proliferazione dei fibroblasti, deposizione di collagene; questi provocano una combinazione di alterazioni dei sistemi vascolare e immunitario (1, 12).

L'attivazione del sistema immunitario, particolarmente precoce nella malattia, è supportata dall'osservazione dell'incremento di cellule mononucleate CD4+attivate nella cute (13), dall'aumento di linfociti CD8+ nel lavaggio broncoalveolare dei pazienti (14, 15) e dall'aumentata citotossicità cellulare anticorpo-dipendente delle cellule endoteliali e dei fibroblasti (16). Recentemente è stata anche supposta un'anomala regolazione dell'apoptosi dei fibroblasti (17-19).

La possibilità di utilizzare l'autotrapianto di cellule staminali ematopoietiche deriva dall'osservazione che in pazienti con emolinfopatie e concomitanti malattie autoimmuni il trapianto si mostrava efficace anche nella cura della malattia autoimmune (20).

Le prime proposte, in tal senso, appaiono in due lavori del 1993 di Marmont (21) e di Slavin (22).

Uno dei razionali su cui si basa questo trattamento è sul concetto di tolleranza. Il sistema immunitario può essere visto come dinamico, costantemente fluttuante tra autoimmunità e tolleranza. Uno steady-state viene raggiunto tra selezione clonale, attivazione, inibizione a feedback, recettori intracellulari e trasduttori di segnale. Un improvviso cambiamento in questa omeostasi dinamica che si riflette sulla tolleranza T-cellulare sia centrale che periferica, può essere provocato da stimoli ambientali (farmaci, infezioni) o da una suscettibilità genetica (legata al complesso maggiore di istocompatibilità). Quindi, l'immunoablazione, seguita da infusione di cellule staminali ematopoietiche può "resettare" il sistema immunitario ed essere di aiuto nel raggiungimento di un nuovo steady-state (23-25).

In una recente review che riporta la casistica di 181 trapianti di cellule staminali ematopoietiche eseguiti per patologia autoimmune nel mondo, la malattia per la quale si ricorre maggiormente a questa procedura è la sclerosi multipla, seguita dall'artrite reumatoide, dalla SSc, dal LES, e dall'artrite reumatoide giovanile. I risultati tra i 29 trapiantati per SSc sono di 8 miglioramenti, 16 stabilizzazioni, 2 mancate risposte, e 3 decessi (26).

In un'altra review, che considera anche i dati del registro europeo dell'EBMT, vengono riportati 66 pazienti con SSc mobilizzati, di questi 58 trapiantati. I risultati sono di 30 miglioramenti, 11 mi-

glioramenti iniziali, ma poi progrediti, 1 stabilizzazione, 3 peggioramenti, 6 decessi correlati al trattamento, 6 decessi correlati alla malattia (9).

Da segnalare che la maggior parte dei decessi è avvenuta nel gruppo di pazienti che aveva utilizzato come regime di condizionamento ciclofosfamide e TBI (total body irradiation) dotato di una potenziale tossicità cardiaca e polmonare che probabilmente in questi soggetti già compromessi è risultata inaccettabile.

Noi abbiamo preferito utilizzare un regime di condizionamento che prevedeva la somministrazione di farmaci ad azione più immunosoppressiva che mieloablativa.

Infatti sia il tiotepa che la fludarabina sono attualmente utilizzati nei regimi di condizionamento dei trapianti allogenici di midollo cosiddetti "non mieloablativi".

La ciclofosfamide è stata utilizzata, nel nostro caso, a dosaggio basso per la concomitante patologia cardiaca.

La globulina antilinfocitaria di coniglio è stata invece somministrata dopo l'infusione delle PBSC con lo scopo di effettuare un "purging" in vivo in modo da ridurre la quota di linfociti T contaminante le cellule staminali infuse.

La terapia ad alte dosi ha poco influito sulla situazione polmonare, che dopo un iniziale arresto ha poi ripreso a peggiorare (Tabella I); la situazione cardiaca è invece sostanzialmente invariata per quanto riguarda la frazione di eiezione mentre il peggioramento della PAPs è da correlare al deterioramento della funzione respiratoria.

La scomparsa della positività degli ac anti-Scl70 sembra correlare con il miglioramento del quadro cutaneo.

Ovviamente non è possibile trarre conclusioni definitive sul ruolo dell'autotrapianto nella gestione del paziente sclerodermico. Sicuramente la regressione della sclerosi cutanea è un elemento importante che deve far riflettere; la progressione del danno polmonare potrebbe anche risentire del fatto che già al momento della diagnosi la DLCO era molto compromessa (33%) e forse in questo non bisogna dimenticare la pregressa diagnosi di silicosi e il fumo di sigaretta (20 al dì fino al 2001).

Lo studio ASTIS attualmente in corso di reclutamento sotto l'egida dell'EULAR e dell'EBMT e che prevede una randomizzazione fra terapia ad alte dosi e terapia con boli di ciclofosfamide nelle forme di SSP aggressiva, permetterà di dare una risposta al ruolo dell'autotrapianto nella sclerosi sistemica (27).

Un ruolo cruciale svolgerà comunque la scelta del regime di condizionamento per il trapianto. Infatti in questo caso lo scopo che ci si deve prefiggere non è quello di indurre una potente azione tumoricida, co-

me nelle malattie neoplastiche ematologiche e non, ma quello di ristabilire la tolleranza immunologica, per cui a nostro avviso si deve dare la preferenza a quei farmaci a prevalente azione immunosoppressiva.

RIASSUNTO

La forma diffusa della Sclerosi Sistemica (SSc) può spesso presentare un decorso rapidamente ingravescente, con impegno viscerale precoce che determina una prognosi severa. La mortalità complessiva a cinque anni è tra il 30 ed il 60% secondo il quadro clinico alla presentazione. Nessun trattamento farmacologico è risultato finora efficace nell'impedire la progressione della malattia o nel regredire la fibrosi. Recentemente si è rilevato promettente il trapianto autologo di cellule staminali periferiche.

Presentiamo il caso di un paziente, maschio, giunto alla nostra osservazione nel febbraio 2001 a 56 anni, che presentava una SSc con un marcato impegno multisistemico polmonare, cutaneo, cardiaco e gastroenterico e positività anticorpale per anti-Scl70. La terapia praticata per 8 mesi, dapprima con iloprost e con ciclofosfamide per os, poi con boli di ciclofosfamide e di prednisone si dimostrò inefficace, con rapida progressione soprattutto polmonare e cutanea. In accordo con il paziente si decise per l'esecuzione di trapianto autologo di cellule staminali periferiche (PBSC). Nel dicembre 2001 mobilizzazione delle PBSC con ciclofosfamide e lenograstim fino al recupero delle PBSC con due procedure di leucoferesi. Nel febbraio 2002 condizionamento con: tiotepa, ciclofosfamide, fludarabina, globulina antifococitaria di coniglio, quindi infusione di PBSC. Il recupero emopoietico (G.N. >500 e PLT >20.000) si è avuto al giorno +10. Per tre mesi dopo il trapianto profilassi antivirale, antibatterica e antifungina con valaciclovir, cotrimossazolo e fluconazolo.

Il follow-up, giunto ad un anno, ha mostrato il miglioramento dell'impegno cutaneo e degli indici soggettivi di malattia, mentre a livello polmonare la terapia ad alte dosi non è stata in grado di impedire la evoluzione del processo.

Parole chiave - Sclerosi sistemica, trapianto di cellule staminali periferiche, malattie autoimmuni.

Key words - *Systemic sclerosis, peripheral blood stem cell transplantation, autoimmune disease.*

BIBLIOGRAFIA

- Wigley FM. Systemic sclerosis – Clinical features. In: Klippel JH, Dieppe PA. Rheumatology, second edition. London: Mosby 1998.
- Black CM, Silman AJ, Herrick AI, Denton CP, Wilson H, et al. Interferon-alpha does not improve outcome at one year in patients with diffuse cutaneous scleroderma: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 299-305.
- Denton CP, Black CM. Scleroderma and related disorders: therapeutic aspects. *Baillieres Best Pract Res Clin Rheumatol* 2000; 14: 17-35.
- Furst DE, Clements PJ. D-penicillamine is not an effective treatment in systemic sclerosis. *Scand J Rheumatol*. 2001; 30: 189-91.
- Van den Hoogen FH, Boerbooms AM, Swaak AJ, Rasker JJ, van Lier HJ, van de Putte LB. Comparison of methotrexate with placebo in the treatment of systemic sclerosis: a 24 week randomized double-blind trial, followed by a 24 week observational trial. *Br J Rheumatol*. 1996; 35: 364-72.
- Leighton C. Drug treatment of scleroderma. *Drugs* 2001; 61: 419-27.
- Tyndall A, Black C, Finke J, Winkler J, Mertlesmann R, Peter HH, et al. Treatment of systemic sclerosis with autologous haemopoietic stem cell transplantation. *Lancet* 1997; 349: 254.
- Marmont AM. Immunoablation followed or not by hematopoietic stem cells as an intense therapy for severe autoimmune diseases. New perspectives, new problems. *Haematologica* 2001; 86: 337-45.
- Binks M, Passweg JR, Furst D, McSweeney P, Sullivan K, Besenthal C, et al. Phase I/II trial of autologous transplantation in systemic sclerosis: procedure related mortality and impact on skin disease. *Ann Rheum Dis* 2001; 60: 577-84.
- Tyndall A, Fassas A, Passweg J, Ruiz de Elvira C, Atal M, Brooks P, et al. Autologous haematopoietic stem cell transplants for autoimmune disease – feasibility and transplant-related mortality. *Bone Marrow Transplant* 1999; 24: 729-34.
- Tyndall A, Gratwohl A. Blood and marrow stem cell transplants in autoimmune disease. A consensus report written on behalf of the European League Against Rheumatism (EULAR) and the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Br J Rheumatol* 1997; 36: 390-2.
- Furst DE, Clements PJ. Hypothesis for the pathogenesis of systemic sclerosis. *J Rheumatol Suppl*. 1997;48:53-7.
- Roumm AD, Whiteside TL, Medsger TA Jr, Rodnan GP. Lymphocytes in the skin of patients with progressive systemic sclerosis. Quantification, subtyping, and clinical correlations. *Arthritis Rheum* 1984; 27: 645-53.
- Atamas SP, Yurovsky VV, Wise R, Wigley FM, Goter

- Robinson CJ, et al. Production of type 2 cytokines by CD8+ lung cells is associated with greater decline in pulmonary function in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 1168-78.
15. Marks RM, Czerniecki M, Andrews BS, Penny R. The effects of scleroderma serum on human microvascular endothelial cells. Induction of antibody-dependent cellular cytotoxicity. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 1524-34.
 16. Maul GG, French BT, van Venrooij WJ, Jimenez SA. Topoisomerase I identified by scleroderma 70 antisera: enrichment of topoisomerase I at the centromere in mouse mitotic cells before anaphase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 83: 5145-9.
 17. Santiago B, Galindo M, Rivero M, Pablos JL. Decreased susceptibility to Fas-induced apoptosis of systemic sclerosis dermal fibroblasts. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 1667-76.
 18. Jelaska A, Korn JH. Role of apoptosis and transforming growth factor beta 1 in fibroblast selection and activation in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 2230-9.
 19. Braun-Moscovici Y, Furste DE. Stem cell therapy in scleroderma. *Curr Opin Rheumatol* 2002; 14: 711-6.
 20. Snowden JA, Patton WN, O'Donnell JL, Hannah EE, Hart DN. Prolonged remission of longstanding systemic lupus erythematosus after autologous bone marrow transplant for non-Hodgkin's lymphoma. *Bone Marrow Transplant*. 1997; 19: 1247-50.
 21. Marmont AM. Immune ablation with stem-cell rescue: a possible cure for systemic lupus erythematosus? *Lupus* 1993; 2: 151-6.
 22. Slavin S. Treatment of life-threatening autoimmune diseases with myeloablative doses of immunosuppressive agents: experimental background and rationale for ABMT. *Bone Marrow Transplant* 1993; 12: 85-8.
 23. Burt RK, Slavin S, Burns WH, Marmont AM. Induction of tolerance in autoimmune disease by hematopoietic stem cell transplantation: getting closer to a cure? *Blood* 2002; 99: 768-84.
 24. Marmont AM. New horizons in the treatment of autoimmune disease: immunoablation and stem cell transplantation. *Ann Rev Med* 2000; 51: 115-34.
 25. Brodsky RA, Fuller AK, Ratner LE, Leffel MS, Jones RJ. Elimination of alloantibodies by immunoablative high-dose cyclophosphamide. *Transplantation* 2001; 71: 482-4.
 26. Bingham SJ, Snowden J, Morgan G, Emery P. High dose immunosuppressive therapy and stem cell transplantation in autoimmune and inflammatory disease. *Int Immunopharmacol* 2002; 2: 399-414.
 27. Tyndall A, Passweg J, Gratwohl A. Haemopoietic stem cell transplantation in the treatment of severe autoimmune diseases 2000. *Ann Rheum Dis* 2001; 60: 702-7.