

Il trapianto allogenico di cellule staminali emopoietiche

di Marco Zecca (*Oncoematologia Pediatrica, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia.*)

Introduzione

Nonostante i recenti progressi in termini di terapia di supporto, di trattamento farmacologico, di terapia trasfusionale e ferrochelante abbiano condotto ad un netto miglioramento sia dell'aspettativa, sia della qualità di vita per le persone affette da anemia falciforme, questi pazienti possono ancora sviluppare quadri clinici particolarmente gravi ed invalidanti ed hanno una aspettativa di vita più breve a causa delle potenziali complicanze di questa malattia.¹

Il trapianto allogenico di cellule staminali emopoietiche (TCSE), soprattutto se effettuato tempestivamente,² prima dell'insorgenza di un danno d'organo irreversibile, rappresenta ancora l'unica strategia terapeutica potenzialmente in grado di curare definitivamente i pazienti con drepanocitosi.³ Tuttavia, spesso, la scelta di sottoporre a TCSE un bambino affetto può essere particolarmente difficile dal momento che la malattia stessa non espone il paziente ad un immediato pericolo di vita.

Indicazioni al TCSE nell'anemia falciforme

L'anemia falciforme è caratterizzata da un quadri clinici eterogenei e di differente gravità, sia tra pazienti diversi, sia nello stesso paziente in tempi differenti. Crisi dolorose frequenti, infarti polmonari o l'insorgenza di complicanze neurologiche cerebrali identificano un sottogruppo di pazienti con prognosi particolarmente sfavorevole ed un significativo peggioramento della qualità e dell'aspettativa di vita. Purtroppo, ad oltre 30 anni dal primo impiego del TCSE per la cura della drepanocitosi, non è stato condotto nessuno studio clinico prospettico randomizzato che confronti il trapianto con trattamenti convenzionali quali l'idrossiurea o la terapia trasfusionale.⁴ Ciò è probabilmente dovuto alla complessità ed eterogeneità della condizione clinica (variabile gravità dei quadri clinici, presenza di co-morbidità, ecc.) che ha reso non realizzabili o non etici studi clinici controllati.⁴ Per cercare di ovviare a questo problema, O'Brien *et al.* hanno impiegato un nuovo e differente approccio, basato sull'analisi decisionale.⁵ In questo caso, il TCSE da donatore familiare HLA-identico si è dimostrato il trattamento associato con la maggiore utilità (intesa come qualità di vita), rispetto alla terapia con idrossiurea o alla terapia trasfusionale cronica.⁵

Alcuni autori hanno proposto dei criteri di eleggibilità al TCSE per pazienti affetti da anemia falciforme.⁶⁻⁸ Questi criteri sono riassunti nella tabella 1.

Tabella 1. Criteri di eleggibilità al TCSE in pazienti affetti da drepanocitosi.

-
- 1) Stroke
 - 2) Acute chest syndrome ricorrenti non responsive al trattamento con idrossiurea
 - 3) Crisi dolorose ricorrenti gravi non responsive al trattamento con idrossiurea
 - 4) Retinopatia proliferativa bilaterale o deficit visivo maggiore ad un singolo occhio
 - 5) Osteonecrosi in sedi multiple
 - 6) Altra complicanza d'organo potenzialmente evolutiva e/o invalidante
 - 7) Alloimmunizzazione alle trasfusioni eritrocitarie
 - 9) Impossibilità ad aderire ai trattamenti medici proposti
-

Modificato da Bhatia M. e Walters MC.⁸

Fattori prognostici per il trapianto.

A differenza della talassemia major, dove l'elevato numero di trapianti effettuati ha permesso di identificare parametri clinici che influenzano la probabilità di successo del trapianto,⁹ a tutt'oggi non esistono *score* prognostici specifici per predire il rischio di fallimento del TCSE in soggetti

affetti da drepanocitosi. Tuttavia, Vermynen C. *et al.* hanno dimostrato un netto incremento degli eventi avversi (rigetto, chimerismo misto, mortalità) in pazienti che avevano già presentato le complicanze tipiche della malattia rispetto a pazienti trapiantati più precocemente, che non avevano ancora avuto complicanze e che avevano ricevuto meno di 3 trasfusioni (25% vs. 7%; $P < 0,001$).² Parimenti in questo secondo gruppo di pazienti, la sopravvivenza libera da malattia (*event-free survival*, EFS) è risultata superiore (93% vs. 76%, $P = N.S.$).²

Il TCSE da donatore familiare HLA-identico.

A tutt'oggi sono stati riportati nella letteratura medica alcune centinaia di trapianti da donatore familiare HLA-identico effettuati in soggetti affetti da anemia falciforme. La maggior parte dei pazienti aveva un'età al momento del trapianto inferiore ai 16 anni e molti di loro avevano presentato importanti complicanze tipiche della malattia, in particolare a carico del sistema nervoso centrale.¹⁰⁻¹⁴ I principali risultati ed *outcome* clinici di questi studi sono riassunti nella tabella 2.

Tabella 2. Risultati del TCSE da donatore familiare HLA-identico nella drepanocitosi.

	Vermynen <i>et al.</i> , 1998.		Walters <i>et al.</i> , 2000.		Panepinto <i>et al.</i> , 2007.		Bernardin <i>et al.</i> , 2007	
	(n = 50)		(n = 50)		(n = 67)		(n = 87)	
Sopravvivenza	93%	(a 11 anni)	94%	(a 6 anni)	97%	(a 5 anni)	93%	(a 5 anni)
Sopravvivenza libera da eventi	82%	(a 11 anni)	84%	(a 6 anni)	85%	(a 5 anni)	86%	(a 5 anni)
Rigetto	10%		10%		13%		7%	
GVHD acuta di grado II-IV	20%		8%		10%		20%	
GVHD cronica estesa	6%		4%		4%		2%	

In sintesi, considerando anche le casistiche meno recenti, viene riportata una sopravvivenza globale post-trapianto superiore al 90%, una EFS compresa fra l'82 e l'86%, una mortalità trapianto-correlata (*transplant-related mortality*, TRM) del 7 – 8% ed un rischio di rigetto dell'8-10% circa. Una perdita del trapianto tardiva (*late o secondary graft failure*) è stata descritta in circa il 5-10% dei casi, con ricostituzione autologa e ricomparsa dell'emopoiesi drepanocitica. Infine, il rischio di sviluppare una malattia del trapianto contro l'ospite (*graft-versus-host disease* o GVHD) acuta di grado II-IV è compreso fra il 10 e il 20%, mentre quello di comparsa di GVHD cronica estesa è inferiore al 5%.^{2,10-24}

Degno di nota è il fatto che nei pazienti affetti da anemia drepanocitica appare superiore, rispetto ad altre emoglobinopatie l'incidenza di complicanze neurologiche nell'immediato periodo post-trapianto (in particolare episodi comiziali e, in minor misura, emorragie endocraniche).²⁵⁻²⁷ Tuttavia, in tempi più recenti la loro frequenza si è nettamente ridotta grazie ad un'appropriata e più attenta terapia di supporto (profilassi anticomiziale, adeguato supporto trasfusionale piastrinico, attento controllo dei livelli ematici di ciclosporina-A, della magnesemia e della pressione arteriosa).²⁸

Il trapianto da donatore volontario non consanguineo.

In assenza di un donatore familiare HLA-identico si può prendere in considerazione anche la possibilità di avviare la ricerca di un donatore volontario non consanguineo. La tipizzazione molecolare ad alta risoluzione per gli antigeni HLA-A, B, C, DRB1, DRB3, DRB4, DRB5, DQA1 e DQB1 è, in questo contesto, indispensabile ed è altrettanto necessario adottare criteri di compatibilità fra donatore e ricevente particolarmente rigorosi, accettando al massimo una singola disparità allelica in prima classe fra donatore e ricevente. Infatti, nei pazienti affetti da talassemia major, la precisa caratterizzazione molecolare degli antigeni HLA impiegando metodiche ad alta risoluzione si è dimostrata in grado di ridurre significativamente il rischio di complicanze immuno-mediate e di eventi avversi fatali.²⁹⁻³¹

Si precisa infine che, viste le peculiarità della patologia e le particolari problematiche relative al trapianto da donatore volontario non consanguineo nelle malattie non maligne, questo approccio

terapeutico dovrebbe essere riservato a quei Centri di Trapianto con consolidata esperienza in tal senso.

Impiego di fonti alternative di cellule staminali emopoietiche.

Si sconsiglia l'utilizzo di cellule staminali emopoietiche da sangue periferico, in quanto è dimostrata l'associazione tra l'impiego di questa fonte di cellule staminali ed una maggiore incidenza di GVHD cronica.³²

Il dati disponibili sull'impiego delle cellule staminali emopoietiche da sangue placentare nella malattia drepanocitica sono ancora scarsi. In letteratura è disponibile un solo lavoro multicentrico, con una casistica relativamente ampia (11 pazienti, trapiantati da donatore familiare HLA-identico).³³ I risultati appaiono essere eccellenti, con una sopravvivenza globale pari al 100% e con un solo paziente su 11 (9%) che ha rigettato il trapianto.

Anche i *report* sui trapianti di sangue placentare da donatore non consanguineo sono ancora relativamente rari e riguardano prevalentemente pazienti con caratteristiche di malattia particolarmente sfavorevoli.³⁴⁻³⁷ Su un totale di 9 pazienti fino ad ora descritti e trattati con regimi di condizionamento estremamente eterogenei (sia mieloablativi che ad intensità ridotta), 5 hanno ottenuto un attecchimento stabile, mentre 4 hanno rigettato il trapianto.

Di fronte ad un così limitato numero di pazienti trattati, che rende impossibile un'analisi approfondita dei fattori di rischio di fallimento del TCSE, appare corretto e prudente, in caso di impiego di unità di sangue placentare, adottare gli stessi principi in uso per la talassemia major. In particolare, si ritiene indicato: i) selezionare un'unità di sangue placentare con un carico cellulare totale superiore a $3 \times 10^7/\text{Kg}$ di peso corporeo del ricevente,^{38,39} ii) omettere il methotrexate nella profilassi della GVHD;³³ iii) includere il thiotepa nel regime mieloablativo.³³

Regime di condizionamento pre-trapianto.

Non sono disponibili in letteratura studi mirati al confronto di efficacia e tossicità dei differenti regimi di condizionamento in pazienti affetti da drepanocitosi.

Per questo motivo, riteniamo corretto mutuare anche in quest'occasione l'ampia esperienza acquisita nel trattamento di pazienti affetti da talassemia major. Si ritiene, quindi, di poter consigliare, anche per l'anemia falciforme, il seguente regime di condizionamento, di impiego ormai consolidato nella talassemia major (vedasi anche tabella 3).⁴⁰

- **Busulfano:** 4 mg/Kg/die ogni 6 ore, per un totale di 16 dosi in 4 giorni, a partire dal giorno -12 fino al giorno -9.
- **Thiotepa:** 5 mg/Kg/die per 2 giorni consecutivi, i giorno -8 e -7.
- **Fludarabina:** 40 mg/m²/die, in infusione di 90 minuti, per 4 giorni consecutivi dal giorno -6 al giorno -3.
- Riposo i giorni -2 e -1.
- Infusione delle cellule staminali emopoietiche in giornata 0.

Considerata l'ampia variabilità interindividuale nell'esposizione sistemica al busulfano, in particolare nei soggetti al di sotto dei 3 anni di età, si raccomanda di eseguire uno studio di farmacocinetica nei pazienti che ricevono il farmaco per via orale.^{41,42} La posologia del busulfano va modificata in base ai risultati dello studio farmacocinetico effettuato dopo la somministrazione della prima dose. Il campionamento viene effettuato con prelievi prima e dopo 1, 2, 4 e 6 ore dalla prima somministrazione. La concentrazione ideale di farmaco allo *steady state* (Css) è 600 – 900 ng/mL. Inoltre, nei pazienti che ricevono il busulfano, in considerazione del significativo rischio di insorgenza di convulsioni, è raccomandata una profilassi anticomiziale durante tale trattamento.

Tabella 3. Regime di condizionamento con Busulfano, Thiotepa e Fludarabina.

Giorni	-12	-11	-10	-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0
Busulfano: 4 mg/Kg/die	●	●	●	●									
Thiotepa: 5 mg/Kg/die					●	●							
Fludarabina: 40 mg/m ² /die							●	●	●	●			
Infusione cellule staminali													●

In alternativa, è stato recentemente proposto, sempre in pazienti affetti da Talassemia major, un nuovo regime di condizionamento che prevede la combinazione di Thiotepa, Treosulfano e Fludarabina,⁴³ secondo il seguente schema;

- **Thiotepa:** 8 mg/Kg, suddivisi in 2 dosi somministrate a 12 ore di distanza, in giornata -7.
- **Treosulfano:** 14 gr/m²/die, in infusione endovenosa di 2 ore, per un totale di 3 dosi, a partire dal giorno -6 fino al giorno -4.
- **Fludarabina:** 40 mg/m²/die, in infusione di 90 minuti, per 4 giorni consecutivi dal giorno -6 al giorno -3.
- Riposo i giorni -2 e -1.
- Infusione delle cellule staminali emopoietiche in giornata 0.

La sostituzione del busulfano con il treosulfano in questo nuovo regime di condizionamento potrebbe permettere di diminuire la tossicità extra-midollare del regime mieloablativo. Inoltre, la stabilità del profilo farmacocinetico del treosulfano somministrato per via endovenosa rende non necessario un aggiustamento della dose per ciascun singolo paziente. Infine, l'impiego di questo farmaco rende non più necessaria una profilassi anticomiziale.

Tabella 4. Regime di condizionamento con Thiotepa, Treosulfano e Fludarabina.

Giorni	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0
Thiotepa: 8 mg/Kg/die	●							
Treosulfano: 14 gr/m ² /die		●	●	●				
Fludarabina: 40 mg/m ² /die		●	●	●	●			
Infusione cellule staminali								●

Negli ultimi anni è stato studiato anche l'impiego di regimi di condizionamento ad intensità ridotta, con il fine di minimizzare il rischio di tossicità a breve ed a lungo termine e di ridurre la mortalità trapianto-correlata.^{35,44-48} Il numero di pazienti arruolati in questi studi è ancora relativamente limitato. Tuttavia, un dato che è spesso emerso è che la riduzione dell'intensità del regime ablativo si associa ad un aumento del rischio di rigetto, vanificando il tal modo i vantaggi ottenuti in termini di ridotta tossicità.

Da poco è stato anche proposto un regime mieloablativo originale, basato sull'uso dell'anticorpo monoclonale anti-CD52 alemtuzumab associato all'irradiazione corporea totale (300 cGy) ed

all'impiego del sirolimus quale terapia immunosoppressiva post-trapianto, in adulti con drepanocitosi associata a gravi complicanze e con donatore familiare HLA-identico.⁴⁹ I risultati, sui primi 10 pazienti arruolati, seppur preliminari, sono certamente interessanti e suggeriscono ulteriori studi in questo senso.

Nonostante i problemi ancora aperti nell'impiego di regimi di condizionamento ad intensità ridotta, alcuni concetti acquisiti da queste esperienze con schemi farmacologici ad intensità ridotta, come ad esempio l'impiego della fludarabina al posto della ciclofosfamide, sono ormai diventati di uso comune e si sono dimostrati importanti per il miglioramento dei risultati clinici, soprattutto per i pazienti con le caratteristiche prognostiche più sfavorevoli.⁵⁰

Profilassi della malattia del trapianto contro l'ospite (*graft-versus-host disease*, GVHD)

Trapianto da donatore familiare HLA-identico: si consiglia l'impiego di:⁵¹

- **Ciclosporina-A:** 2 mg/Kg/die e.v., in 2 somministrazioni giornaliere, dal giorno -3 fino, approssimativamente, al giorno +20 - +25 dal trapianto. Successivamente, il farmaco viene somministrato per via orale alla dose di 4 – 6 mg/Kg/die. Dopo 6 – 8 mesi dal trapianto la terapia immunosoppressiva può essere gradualmente ridotta, fino alla sospensione verso l'anno dal trapianto. Si raccomanda un monitoraggio dei livelli plasmatici di ciclosporina-A, mantenendoli tra 100 e 250 ng/mL.

Più

- **Methotrexate *short-term*:** 15 mg/m² e.v. in 30 minuti il giorno +1; 10 mg/m² e.v. in 30 minuti i giorni +3 e +6 dal trapianto.
- Nessuno studio controllato ha valutato l'impiego dell'ATG dopo trapianto da donatore familiare HLA-identico. Tuttavia, si segnala che nel lavoro pubblicato da Bernaudin *et al.* l'aggiunta dell'ATG alla profilassi della GVHD ha portato ad una riduzione del rischio di rigetto dal 23% al 3%.²²

Trapianto da donatore volontario non consanguineo: si consiglia l'impiego di:

- **Ciclosporina-A:** come descritto sopra.

Più

- **Methotrexate *short-term*:** 15 mg/m² e.v. in 30 minuti il giorno +1; 10 mg/m² e.v. in 30 minuti i giorni +3, +6 e +11 dal trapianto.

Più

- **ATG:** Fresenius 5 -10 mg/Kg/die e.v. oppure Genzyme 2 – 3 mg/Kg/die, in infusione di 6 – 8 ore, dal giorno -5 al giorno -3. Premedicazione con metilprednisolone ed antistaminici.

Trapianto di sangue placentare da donatore familiare HLA-identico: si consiglia l'impiego di:³³

- **Ciclosporina-A:** come descritto sopra.

Trapianto di sangue placentare da donatore volontario non consanguineo: si consiglia l'impiego di:

- **Ciclosporina-A:** come descritto sopra.
- **Metilprednisolone:** 1-2 mg/Kg/die per via endovenosa, con progressiva riduzione fino alla sospensione a circa 30 giorni dal trapianto.
- Si raccomanda di evitare l'impiego del methotrexate.³³

Effetti collaterali ed outcome a lungo termine del trapianto.

Quando presente, il sovraccarico di ferro corporeo si riduce molto lentamente dopo TCSE. Per questo motivo, in analogia con quanto suggerito per la talassemia major, si raccomanda di intraprendere un programma di ferrochelazione o regolari flebotomie, a partire da alcuni mesi post-trapianto e fino ad una normalizzazione del bilancio marziale (ferritina inferiore a 500 ng/mL).⁵²

La funzionalità polmonare sembra non risentire sfavorevolmente dei farmaci somministrati con il condizionamento di preparazione al trapianto. Al contrario, è stato possibile dimostrare un miglioramento post-TCSE del danno polmonare pre-esistente in circa il 50% dei casi, ed una sua stabilizzazione, senza ulteriore peggioramento, nel restante 50%.⁵³

Passando invece agli effetti collaterali tardivi di tipo endocrinologico, la velocità di crescita post-trapianto e la statura definitiva raggiunta dai pazienti trapiantati, al completamento dello sviluppo puberale, risultano generalmente essere nella norma.⁵⁴⁻⁵⁶ Lo sviluppo puberale è invece ritardato nella maggior parte delle ragazze (70% circa),⁵³ con frequente necessità di supporto ormonale estrogenico sostitutivo. Al contrario, nei soggetti di sesso maschile la pubertà inizia e progredisce regolarmente nella quasi totalità di casi anche se, spesso, il volume gonadico definitivo è inferiore alla norma ed i livelli serici di FSH restano elevati.^{53,55}

I dati sulla fertilità post-trapianto sono limitati. La sterilità è frequente,⁵⁷ anche se sono state riportate gravidanze e paternità.⁵⁵ Tuttavia, esistono programmi di ricerca attivi nel campo della criopreservazione di tessuto ovarico e testicolare anche in pazienti pre-puberi, per cui può essere utile prendere in considerazione e discutere queste opzioni con le famiglie, prima di avviare i pazienti al trapianto.⁵⁸

Dal punto di vista neurologico le informazioni sull'evoluzione post-TCSE di alterazioni cerebrali e delle funzioni cognitive in pazienti con drepanocitosi sono in alcuni casi contrastanti.^{53,59-61} Mentre 2 studi pubblicati da Thompson e colleghi^{59,60} sembrano suggerire comunque un declino post-TCSE delle funzioni neurocognitive, un più recente studio pubblicato da Woodard *et al.*⁶¹ ha dimostrato la stabilizzazione delle funzioni cognitive dopo trapianto, indipendentemente dall'evoluzione clinica di possibili alterazioni a carico del parenchima cerebrale già presenti prima del trapianto. Questo dato è stato recentemente confermato da Walters e colleghi che hanno mostrato una stabilizzazione o un miglioramento post-trapianto del quadro radiologico cerebrale, studiato mediante RMN, in pazienti con pregressi ictus pre-trapianto.³³

Conclusioni.

Il TCSE rimane l'unico approccio terapeutico potenzialmente curativo per il trattamento dell'anemia falciforme. I risultati del trapianto sono positivi ed i rischi connessi alla procedura ragionevolmente limitati. La sopravvivenza dopo trapianto da donatore familiare HLA-identico è circa il 95%, e la sopravvivenza libera da malattia oscilla tra l'80 e l'85%.³

L'eterogeneità di questa malattia rende necessaria l'identificazione di alcuni sottogruppi di pazienti a prognosi meno favorevole con la sola terapia convenzionale e, quindi, con potenziale maggiore beneficio dalla procedura trapiantologica. In particolare, i pazienti che presentano crisi dolorose ricorrenti nonostante la terapia con idrossiurea o complicanze a livello del sistema nervoso centrale sono quelli per cui si raccomanda un consulto presso un Centro di Trapianto di Midollo Osseo con un programma attivo in questo settore, in quanto in questo gruppo di pazienti il TCSE, effettuato tempestivamente e prima che si instauri un danno d'organo irreversibile, può condurre ad un significativo miglioramento della qualità e dell'aspettativa di vita.

Raccomandazioni.

1. Esecuzione di tipizzazione HLA del nucleo familiare di ciascun paziente con i criteri riportati in tabella 1. (C)
2. Effettuare raccolta dedicata di sangue placentare in caso di nascita di un fratello/sorella minore del paziente. (C)
3. Per i pazienti identificati in base alle caratteristiche riportate in tabella 1, consulto presso un Centro TCSE con provata esperienza, prima che si sviluppi un danno d'organo non reversibile. (C)
4. Esecuzione di trapianto da donatore volontario non consanguineo riservata ai Centri TCSE con esperienza e/o con programmi attivi in questo settore. (C)
5. In caso di impiego del busulfano nel regime di condizionamento, esecuzione di studio farmacocinetico per adattare la posologia del farmaco alle concentrazioni plasmatiche. (B)
6. Evitare l'impiego delle cellule staminali emopoietiche da sangue periferico. (B)
7. Proporre ai genitori la possibilità di criopreservazione pre-trapianto di tessuto ovarico o testicolare anche in pazienti pre-puberi. (B)

8. E' indicato un programma di flebotomie o ferrochelazione post-trapianto nei soggetti con significativo sovraccarico marziale. (B)

Bibliografia

1. Gill FM, Sleeper LA, Weiner SJ, et al. Clinical events in the first decade in a cohort of infants with sickle cell disease. *Blood*. 1995; 86:776-783.
2. Vermynen C, Cornu G, Ferster A, et al. Haematopoietic stem cell transplantation for sickle cell anaemia: the first 50 patients transplanted in Belgium. *Bone Marrow Transplant*. 1998; 22:1-6. **P-III**.
3. Bolanos-Meade J, Brodsky RA. Blood and marrow transplantation for sickle cell disease: overcoming barriers to success. *Curr Opin Oncol*. 2009; 21:158-161.
4. Oringanje C, Nemecek E, Oniyangi O. Hematopoietic stem cell transplantation for children with sickle cell disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2009;CD007001.
5. O'Brien SH, Hankins JS. Decision analysis of treatment strategies in children with severe sickle cell disease. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2009; 31:873-878.
6. Walters MC, Patience M, Leisenring W, et al. Barriers to bone marrow transplantation for sickle cell anemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 1996; 2:100-104. **P-III**.
7. Shenoy S. Has stem cell transplantation come of age in the treatment of sickle cell disease? *Bone Marrow Transplant*. 2007; 40:813-821.
8. Bhatia M, Walters MC. Hematopoietic cell transplantation for thalassemia and sickle cell disease: past, present and future. *Bone Marrow Transplant*. 2008; 41:109-117.
9. Lucarelli G, Galimberti M, Polchi P, et al. Bone marrow transplantation in patients with thalassemia. *N Engl J Med*. 1990; 322:417-421. **P-III**.
10. Vermynen C, Cornu G, Ferster A, Ninane J, Sariban E. Bone marrow transplantation in sickle cell disease: the Belgian experience. *Bone Marrow Transplant*. 1993; 12 Suppl 1:116-117. **P-V**.
11. Bernaudin F, Souillet G, Vannier JP, et al. Bone marrow transplantation (BMT) in 14 children with severe sickle cell disease (SCD): the French experience. *GEGMO. Bone Marrow Transplant*. 1993; 12 Suppl 1:118-121. **P-V**.
12. Vermynen C, Cornu G. Bone marrow transplantation for sickle cell disease. The European experience. *Am J Pediatr Hematol Oncol*. 1994; 16:18-21. **P-V**.
13. Johnson FL, Mentzer WC, Kalinyak KA, Sullivan KM, Abboud MR. Bone marrow transplantation for sickle cell disease. The United States experience. *Am J Pediatr Hematol Oncol*. 1994; 16:22-26. **P-V**.
14. Abboud MR, Jackson SM, Barredo J, Beatty J, Laver J. Bone marrow transplantation for sickle cell anemia. *Am J Pediatr Hematol Oncol*. 1994; 16:86-89. **P-V**.
15. Vermynen C, Cornu G, Philippe M, et al. Bone marrow transplantation in sickle cell anaemia. *Arch Dis Child*. 1991; 66:1195-1198. **P-V**.
16. Ferster A, De Valck C, Azzi N, Fondu P, Toppet M, Sariban E. Bone marrow transplantation for severe sickle cell anaemia. *Br J Haematol*. 1992; 80:102-105. **P-V**.
17. Kalinyak KA, Morris C, Ball WS, Ris MD, Harris R, Rucknagel D. Bone marrow transplantation in a young child with sickle cell anemia. *Am J Hematol*. 1995; 48:256-261. **P-V**.
18. Walters MC, Patience M, Leisenring W, et al. Bone marrow transplantation for sickle cell disease. *N Engl J Med*. 1996; 335:369-376. **P-V**.
19. Walters MC, Patience M, Leisenring W, et al. Collaborative multicenter investigation of marrow transplantation for sickle cell disease: current results and future directions. *Biol Blood Marrow Transplant*. 1997; 3:310-315. **P-V**.
20. Walters MC, Storb R, Patience M, et al. Impact of bone marrow transplantation for symptomatic sickle cell disease: an interim report. Multicenter investigation of bone marrow transplantation for sickle cell disease. *Blood*. 2000; 95:1918-1924. **P-V**.
21. Walters MC, Patience M, Leisenring W, et al. Stable mixed hematopoietic chimerism after bone marrow transplantation for sickle cell anemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2001; 7:665-673. **P-V**.

22. Bernaudin F, Socie G, Kuentz M, et al. Long-term results of related myeloablative stem-cell transplantation to cure sickle cell disease. *Blood*. 2007; 110:2749-2756. **P-IV**.
23. Panepinto JA, Walters MC, Carreras J, et al. Matched-related donor transplantation for sickle cell disease: report from the Center for International Blood and Transplant Research. *Br J Haematol*. 2007; 137:479-485. **P-V**.
24. Majumdar S, Robertson Z, Robinson A, Starnes S, Iyer R, Megason G. Outcome of hematopoietic cell transplantation in children with sickle cell disease, a single center's experience. *Bone Marrow Transplant*. 2009. **P-V**.
25. Walters MC, Sullivan KM, Bernaudin F, et al. Neurologic complications after allogeneic marrow transplantation for sickle cell anemia. *Blood*. 1995; 85:879-884. **P-V**.
26. Ferster A, Christophe C, Dan B, Devalck C, Sariban E. Neurologic complications after bone marrow transplantation for sickle cell anemia. *Blood*. 1995; 86:408-409. **P-V**.
27. Abboud MR, Jackson SM, Barredo J, Holden KR, Cure J, Laver J. Neurologic complications following bone marrow transplantation for sickle cell disease. *Bone Marrow Transplant*. 1996; 17:405-407. **P-V**.
28. McPherson ME, Anderson AR, Haight AE, et al. Transfusion management of sickle cell patients during bone marrow transplantation with matched sibling donor. *Transfusion*. 2009; 49:1977-1986. **P-V**.
29. La Nasa G, Giardini C, Argioli F, et al. Unrelated donor bone marrow transplantation for thalassemia: the effect of extended haplotypes. *Blood*. 2002; 99:4350-4356. **A-V**.
30. La Nasa G, Argioli F, Giardini C, et al. Unrelated bone marrow transplantation for beta-thalassemia patients: The experience of the Italian Bone Marrow Transplant Group. *Ann N Y Acad Sci*. 2005; 1054. **A-V**.
31. Hongeng S, Pakakasma S, Chuansumrit A, et al. Outcomes of transplantation with related- and unrelated-donor stem cells in children with severe thalassemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2006; 12:683-687. **P-III**.
32. Ghavamzadeh A, Irvani M, Ashouri A, et al. Peripheral blood versus bone marrow as source of hematopoietic stem cells for allogeneic transplantation in children with class I and II beta thalassemia major. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008; 14:301-308. **P-III**.
33. Locatelli F, Rocha V, Reed W, et al. Related umbilical cord blood transplantation in patients with thalassemia and sickle cell disease. *Blood*. 2003; 101:2137-2143. **P-V**.
34. Adamkiewicz TV, Mehta PS, Boyer MW, et al. Transplantation of unrelated placental blood cells in children with high-risk sickle cell disease. *Bone Marrow Transplant*. 2004; 34:405-411. **P-V**.
35. Mazur M, Kurtzberg J, Halperin E, Ciocci G, Szabolcs P. Transplantation of a child with sickle cell anemia with an unrelated cord blood unit after reduced intensity conditioning. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2006; 28:840-844. **P-V**.
36. Adamkiewicz TV, Szabolcs P, Haight A, et al. Unrelated cord blood transplantation in children with sickle cell disease: review of four-center experience. *Pediatr Transplant*. 2007; 11:641-644. **P-V**.
37. Sauter C, Rausen AR, Barker JN. Successful unrelated donor cord blood transplantation for adult sickle cell disease and Hodgkin lymphoma. *Bone Marrow Transplant*. 2009. **A-V**.
38. Barker JN, Davies SM, DeFor T, Ramsay NK, Weisdorf DJ, Wagner JE. Survival after transplantation of unrelated donor umbilical cord blood is comparable to that of human leukocyte antigen-matched unrelated donor bone marrow: results of a matched-pair analysis. *Blood*. 2001; 97:2957-2961. **P-III**.
39. Wagner JE, Barker JN, DeFort TE, et al. Transplantation of unrelated donor umbilical cord blood in 102 patients with malignant and nonmalignant diseases: influence of CD34 cell dose and HLA disparity on treatment-related mortality and survival. *Blood*. 2002; 100:1611-1618. **P-V**.
40. ithanet ElfTRN. Guideline. Haematopoietic stem cell transplantation in children with thalassemia major.
41. Hartman AR, Williams SF, Dillon JJ. Survival, disease-free survival and adverse effects of conditioning for allogeneic bone marrow transplantation with busulfan/cyclophosphamide vs total body irradiation: a meta-analysis. *Bone Marrow Transplant*. 1998; 22:439-443.
42. Hassan M, Ljungman P, Ringdén O, et al. The effect of busulphan on the pharmacokinetics of cyclophosphamide and its 4-hydroxy metabolite: time interval influence on therapeutic efficacy and therapy-related toxicity. *Bone Marrow Transplant*. 2000; 25:915-924. **A-V**.
43. Bernardo ME, Zecca M, Piras E, et al. Treosulfan-based conditioning regimen for allogeneic haematopoietic stem cell transplantation in patients with thalassaemia major. *Br J Haematol*. 2008; 143:548-551. **P-V**.

44. van Besien K, Bartholomew A, Stock W, et al. Fludarabine-based conditioning for allogeneic transplantation in adults with sickle cell disease. *Bone Marrow Transplant.* 2000; 26:445-449. **A-V.**
45. Krishnamurti L, Blazar BR, Wagner JE. Bone marrow transplantation without myeloablation for sickle cell disease. *N Engl J Med.* 2001; 344:68.
46. Schleuning M, Stoetzer O, Waterhouse C, Schlemmer M, Ledderose G, Kolb HJ. Hematopoietic stem cell transplantation after reduced-intensity conditioning as treatment of sickle cell disease. *Exp Hematol.* 2002; 30:7-10. **A-V.**
47. Iannone R, Casella JF, Fuchs EJ, et al. Results of minimally toxic nonmyeloablative transplantation in patients with sickle cell anemia and beta-thalassemia. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2003; 9:519-528. **P-V.**
48. Horan JT, Liesveld JL, Fenton P, Blumberg N, Walters MC. Hematopoietic stem cell transplantation for multiply transfused patients with sickle cell disease and thalassemia after low-dose total body irradiation, fludarabine, and rabbit anti-thymocyte globulin. *Bone Marrow Transplant.* 2005; 35:171-177. **A-V.**
49. Hsieh MM, Kang EM, Fitzhugh CD, et al. Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation for sickle cell disease. *N Engl J Med.* 2009; 361:2309-2317. **A-V.**
50. Locatelli F. Reduced-intensity regimens in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for hemoglobinopathies. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2006:398-401.
51. Locatelli F, Bruno B, Zecca M, et al. Cyclosporin A and short-term methotrexate versus cyclosporin A as graft versus host disease prophylaxis in patients with severe aplastic anemia given allogeneic bone marrow transplantation from an HLA-identical sibling: results of a GITMO/EBMT randomized trial. *Blood.* 2000; 96:1690-1697. **A-II.**
52. Schrier SL, Angelucci E. New strategies in the treatment of the thalassemias. *Annu Rev Med.* 2005; 56:157-171.
53. Walters MC, Hardy K, Edwards S, et al. Pulmonary, Gonadal and Central Nervous System Status after Bone Marrow Transplantation for Sickle Cell Disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2009. **P-V.**
54. Cohen A, Rovelli A, Bakker B, et al. Final height of patients who underwent bone marrow transplantation for hematological disorders during childhood: a study by the Working Party for Late Effects-EBMT. *Blood.* 1999; 93:4109-4115. **P-V.**
55. Brachet C, Heinrichs C, Tenoutasse S, Devalck C, Azzi N, Ferster A. Children with sickle cell disease: growth and gonadal function after hematopoietic stem cell transplantation. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2007; 29:445-450. **P-V.**
56. Eggleston B, Patience M, Edwards S, et al. Effect of myeloablative bone marrow transplantation on growth in children with sickle cell anaemia: results of the multicenter study of haematopoietic cell transplantation for sickle cell anaemia. *Br J Haematol.* 2007; 136:673-676. **P-V.**
57. Lukusa AK, Vermeylen C, Vanabelle B, et al. Bone marrow transplantation or hydroxyurea for sickle cell anemia: long-term effects on semen variables and hormone profiles. *Pediatr Hematol Oncol.* 2009; 26:186-194. **A-III.**
58. Donnez J, Dolmans MM, Demylle D, et al. Restoration of ovarian function after orthotopic (intraovarian and periovarian) transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a woman treated by bone marrow transplantation for sickle cell anaemia: case report. *Hum Reprod.* 2006; 21:183-188. **A-V.**
59. Thompson RJJ, Gustafson KE, Bonner MJ, Ware RE. Neurocognitive development of young children with sickle cell disease through three years of age. *J Pediatr Psychol.* 2002; 27:235-244. **P-V.**
60. Thompson RJJ, Armstrong FD, Link CL, Pegelow CH, Moser F, Wang WC. A prospective study of the relationship over time of behavior problems, intellectual functioning, and family functioning in children with sickle cell disease: a report from the Cooperative Study of Sickle Cell Disease. *J Pediatr Psychol.* 2003; 28:59-65. **P-V.**
61. Woodard P, Helton KJ, Khan RB, et al. Brain parenchymal damage after haematopoietic stem cell transplantation for severe sickle cell disease. *Br J Haematol.* 2005; 129:550-552. **P-V.**