

Aus der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen

Abteilung Kinderheilkunde III mit Poliklinik

(Schwerpunkt: Neuropädiatrie, Entwicklungsneurologie,
Sozialpädiatrie)

Quantifizierung der Gehirnveränderung bei Kindern mit
juveniler Metachromatischer Leukodystrophie und der
Effekt der Stammzelltransplantation

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

Strölin, Manuel

2018

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. I. Krägeloh-Mann

2. Berichterstatter: Professor Dr. U. Ziemann

Tag der Disputation: 12.12.2017

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	13
1.1	Metachromatische Leukodystrophie im Überblick.....	13
1.1.1	Historische Entwicklung.....	13
1.1.2	Pathogenese	14
1.1.3	Histopathologie.....	15
1.1.4	MLD-Mausmodelle	16
1.1.5	Genetik	18
1.1.6	Epidemiologie	19
1.1.7	Klinisches Krankheitsbild	20
1.1.8	Diagnostik.....	21
1.2	MRT bei MLD	23
1.2.1	Technische und physikalische Grundlagen	23
1.2.2	Darstellung der Gehirnveränderungen bei MLD.....	24
1.3	Hämatopoetische Stammzelltransplantation bei MLD	26
1.3.1	Allgemeine Therapieoptionen bei MLD	26
1.3.2	Die Stammzelltransplantation	28
1.3.3	Stammzelltransplantation bei MLD.....	29
1.3.4	Bisherige Studien	29
1.3.5	Gehirnveränderungen im MRT unter Stammzelltransplantation	31
1.4	Motivation und Zielsetzung der Arbeit.....	34
2	Patienten, Material und Methoden.....	38
2.1	Patienten	38
2.1.1	Ein- und Ausschlusskriterien	39
2.1.2	Transplantierte Patienten	40

2.1.3	Nicht-transplantierte Patienten	40
2.2	MRT-Daten.....	40
2.3	Klinische Daten	42
2.4	Klinische Parameter	43
2.4.1	IQ-Test.....	43
2.4.2	Aspekte des Sprachverlusts	44
2.4.3	GMFC-MLD-Score.....	44
2.5	MRT Parameter.....	45
2.5.1	MRI-Severity-Score	45
2.5.2	Demyelination Load.....	47
2.5.3	Hirnvolumen	49
2.6	Statistische Auswertung.....	51
2.6.1	Korrelation der MRT-Parameter mit klinischen Parametern.....	51
2.6.2	Prognostische Aussagekraft der MRT-Parameter für den natürlichen Krankheitsverlauf	53
2.6.3	Lokalisation des Demyelination Loads und klinische Parameter....	54
2.6.4	MRT-Parameter im Krankheitsverlauf mit und ohne Stammzelltransplantation	56
2.6.5	Prognostische Aussagekraft der MRT-Parameter für den Therapieerfolg der Stammzelltransplantation	58
2.6.6	Reliabilität der Demyelination Load Quantifizierung	58
3	Ergebnisse	60
3.1	Korrelation MRT-Parameter mit klinischen Parametern.....	60
3.1.1	IQ.....	60
3.1.2	Aspekte des Sprachverlusts	65
3.1.3	GMFC-MLD-Score.....	70

3.2	Korrelation zwischen Lokalisation der Demyelinisierung und Symptomatik	73
3.2.1	IQ	73
3.2.2	Aspekte des Sprachverlusts	77
3.2.3	GMFC-MLD-Score	79
3.3	Prognostische Aussagekraft der MRT-Parameter für den natürlichen Krankheitsverlauf	80
3.3.1	MRT-Parameter (bei Diagnosestellung)	80
3.3.2	Lokalisation des Demyelination Loads (bei Diagnosestellung)	82
3.4	MRT-Parameter im Krankheitsverlauf mit und ohne Stammzelltransplantation	84
3.4.1	MRT-Parameter in Bezug zum Alter	85
3.4.2	MRT-Parameter in Bezug zur Zeit nach Erstsymptomatik	90
3.4.3	MRT-Parameter in Bezug zur Zeit nach Stammzelltransplantation	94
3.4.4	Langzeiteffekt der Stammzelltransplantation	98
3.5	Prognostische Aussagekraft der MRT-Parameter für den Therapieerfolg der Stammzelltransplantation	100
3.6	Reliabilität der Demyelination Load Quantifizierung	101
4	Diskussion	102
4.1	Messung der Demyelinisierung bei juveniler MLD	102
4.2	MRT-Parameter und klinische Symptomatik	103
4.2.1	Bedeutung für kognitive Symptome	104
4.2.2	Bedeutung für motorische Symptome	108
4.2.3	Lokalisation des Demyelination Loads	110
4.3	Demyelination Load als klinisch sinnvoller Surrogatparameter für Therapiestudien und Krankheitsverläufe?	114

4.4	Bestimmung des Demyelination Loads zur Prognose des natürlichen Krankheitsverlaufes	116
4.4.1	Prädiktiver Wert der verschiedenen MRT-Parameter für den natürlichen Krankheitsverlauf.....	117
4.4.2	Prädiktiver Wert der Lokalisation des Demyelination Loads für den natürlichen Krankheitsverlauf.....	118
4.5	Messung von Therapieeffekten der Stammzelltransplantation mittels MRT.....	120
4.5.1	Effekte der Stammzelltransplantation in der MRT-Diagnostik	120
4.5.2	Demyelination Load zur Verlaufsbeschreibung nach Stammzelltransplantation	123
4.6	Demyelination Load als prädiktiver Marker des Patienten-Outcomes nach Stammzelltransplantation.....	126
4.7	Einordnung des Demyelination Loads in die MRT-Diagnostik bei MLD und Schlussfolgerung	129
5	Zusammenfassung	133
6	Literaturverzeichnis.....	135
7	Anhang	146
8	Veröffentlichungen.....	154
9	Erklärung zum Eigenanteil	155
10	Danksagung.....	156

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildung 1: Struktur des ARSA-Gens	18
Tabelle 1: Diagnostik und Differentialdiagnosen bei MLD	22
Abbildung 2: Typischer MRT-Befund bei MLD	24
Abbildung 3: Vergleich der MRT-Veränderungen zwischen transplantierten und nicht-transplantierten Geschwistern	33
Tabelle 2: Verteilung der MRT-Daten.....	41
Tabelle 3: Verteilung der MRT-Datensätze	42
Abbildung 4: GMFC-MLD-Score	45
Abbildung 5: MRI-Severity-Score nach Eichler et al.	46
Abbildung 6: Schematische Zusammenfassung der Bestimmung des Demyelination Loads	48
Abbildung 7: Schematische Zusammenfassung des VLSM.....	56
Tabelle 4: Verteilung der IQ-Daten.....	60
Abbildung 8: Punktwolke und Regressionsgerade zur Darstellung des Zusammenhangs von IQ-Werten und MRI-Scores	61
Abbildung 9: Punktwolke und Regressionsgerade zur Darstellung des Zusammenhangs von IQ-Werten und dem DL.....	61
Abbildung 10: Punktwolke und Regressionsgerade zur Darstellung des Zusammenhangs von IQ-Werten und dem Quotienten aus DL und HV	62
Abbildung 11: Punktwolke und Regressionsgerade zur Darstellung des Zusammenhangs von IQ-Werten und dem HV	63
Abbildung 12: Unterschied der MRT-Parameter bei Patienten mit normaler Kognition und kognitiven Defiziten	64
Tabelle 5: Mittelwerte der MRT-Parameter bei Patienten mit normaler Kognition und kognitiven Defiziten	65
Tabelle 6: Verteilung der Daten zu den Aspekten des Sprachverlusts	65

Tabelle 7: Verteilung der Daten auf die Gruppen mit unterschiedlichen Aspekten des Sprachverlusts.....	66
Abbildung 13: Unterschied des MRI-Scores bei Patienten mit unterschiedlichen Aspekten des Sprachverlusts.....	66
Tabelle 8: Mittelwerte des MRI-Scores bei Patienten mit unterschiedlichen Aspekten des Sprachverlusts.....	66
Abbildung 14: Unterschied des DL bei Patienten mit unterschiedlichen Aspekten des Sprachverlusts.....	67
Tabelle 9: Mittelwerte des DL bei Patienten mit unterschiedlichen Aspekten des Sprachverlusts.....	67
Abbildung 15: Unterschied des Quotienten aus DL und HV bei Patienten mit unterschiedlichen Aspekten des Sprachverlusts.....	68
Tabelle 10: Mittelwerte des DL/HV-Quotienten bei Patienten mit unterschiedlichen Aspekten des Sprachverlusts.....	68
Abbildung 16: Unterschied des HV bei Patienten mit unterschiedlichen Aspekten des Sprachverlusts.....	69
Tabelle 11: Mittelwerte des HV bei Patienten mit unterschiedlichen Aspekten des Sprachverlusts.....	69
Tabelle 12: Verteilung der GMFC-MLD-Daten.....	70
Abbildung 17: Punktwolke und Regressionsgerade zur Darstellung des Zusammenhangs von GMFC-MLD-Scores und MRI-Scores.....	70
Abbildung 18: Punktwolke und Regressionsgerade zur Darstellung des Zusammenhangs von GMFC-MLD-Scores und dem DL.....	71
Abbildung 19: Punktwolke und Regressionsgerade zur Darstellung des Zusammenhangs von GMFC-MLD-Scores und dem Quotienten aus DL und HV.....	72
Abbildung 20: Punktwolke und Regressionsgerade zur Darstellung des Zusammenhangs von GMFC-MLD-Scores und dem HV.....	73
Tabelle 13: Statistische Kenngrößen der VLSM (IQ).....	73

Abbildung 21: Voxel-based lesion-symptom mapping der IQ-Werte.....	74
Tabelle 14: Statistische Kenngrößen der VLSM (kognitive Defizite).....	75
Abbildung 22: Voxel-based lesion-symptom mapping der Patienten mit normaler Kognition und kognitiven Defiziten	75
Tabelle 15: Statistische Kenngrößen der VLSM (Aspekte des Sprachverlusts).....	77
Abbildung 23: Voxel-based lesion-symptom mapping der Aspekte des Sprachverlusts mit Darstellung der frontalen Beteiligung	77
Abbildung 24: Voxel-based lesion-symptom mapping der Aspekte des Sprachverlusts mit Darstellung der temporalen Beteiligung	78
Tabelle 16: Statistische Kenngrößen der VLSM (GMFC-MLD-Score).....	79
Abbildung 25: Voxel-based lesion-symptom mapping des GMFC-MLD-Scores.....	79
Abbildung 26: Unterschied der MRT-Parameter zum frühen MRT-Zeitpunkt bei Patienten mit unterschiedlich schwerem natürlichen Krankheitsverlauf.....	80
Tabelle 17: Mittelwerte der MRT-Parameter bei Patienten unterschiedlichem Krankheitsprogress	81
Tabelle 18: Statistische Kenngrößen der VLSM (Schwere des natürlichen Krankheitsverlaufs).....	82
Abbildung 27: Voxel-based lesion-symptom mapping des natürlichen Krankheitsverlaufs	83
Abbildung 28: Langzeitverläufe der MRI-Scores.....	85
Abbildung 29: Langzeitverläufe des Demyelination Loads.....	86
Abbildung 30: Langzeitverläufe des korrigierten Demyelination Loads.....	87
Abbildung 31: Langzeitverläufe des Hirnvolumens	89
Abbildung 32: Verläufe der MRI-Scores in Bezug zum Krankheits-Onset	90
Abbildung 33: Verläufe des Demyelination Loads in Bezug zum Krankheits-Onset.....	91

Abbildung 34: Verläufe des korrigierten Demyelination Loads in Bezug zum Krankheits-Onset.....	92
Abbildung 35: Verläufe des Hirnvolumens in Bezug zum Krankheits-Onset.....	93
Abbildung 36: MRI-Score-Entwicklung der transplantierten Patienten in Bezug zum Transplantationszeitpunkt.....	94
Abbildung 37: Demyelination Load-Entwicklung der transplantierten Patienten in Bezug zum Transplantationszeitpunkt	95
Abbildung 38: Entwicklung des korrigierten Demyelination Loads der transplantierten Patienten in Bezug zum Transplantationszeitpunkt	96
Abbildung 39: Hirnvolumenentwicklung der transplantierten Patienten in Bezug zum Transplantationszeitpunkt.....	97
Abbildung 40: Unterschied der MRT-Parameter bei Patienten mit und ohne Stammzelltransplantation	98
Tabelle 19: Mittelwerte der MRT-Parameter bei Patienten mit und ohne HSZT	99
Abbildung 41: Unterschied der MRT-Parameter vor der Stammzelltransplantation bei Patienten mit unterschiedlichem Ansprechen auf die HSZT	100
Tabelle 20: Mittelwerte der MRT-Parameter bei Patienten mit unterschiedlichem Ansprechen auf die HSZT	101
Tabelle 21: Überprüfung der Intrarater-Reliabilität für die Bestimmung des Demyelination Loads	101
Abbildung 42: Langzeitverläufe des MRI-Scores (nicht-transplantierte Patienten ebenfalls dargestellt)	146
Abbildung 43: Langzeitverläufe des Demyelination Loads (nicht-transplantierte Patienten ebenfalls dargestellt)	147
Abbildung 44: Langzeitverläufe des korrigierten Demyelination Loads (nicht-transplantierte Patienten ebenfalls dargestellt)	148

Abbildung 45: Langzeitverläufe des Hirnvolumens (nicht-transplantierte Patienten ebenfalls dargestellt)	149
Abbildung 46: Verläufe des MRI-Scores in Bezug zum Krankheits-Onset (nicht-transplantierte Patienten ebenfalls dargestellt)	150
Abbildung 47: Verläufe des Demyelination Loads in Bezug zum Krankheits-Onset (nicht-transplantierte Patienten ebenfalls dargestellt).....	151
Abbildung 48: Verläufe des korrigierten Demyelination Loads in Bezug zum Krankheits-Onset (nicht-transplantierte Patienten ebenfalls dargestellt)	152
Abbildung 49: Verläufe des Hirnvolumens in Bezug zum Krankheits-Onset (nicht-transplantierte Patienten ebenfalls dargestellt)	153

Abkürzungsverzeichnis

ARSA	Arylsulfatase A - Gen
ASA	Arylsulfatase A
ASA-PD	Arylsulfatase A-Pseudodefizienz
ax.	axial
BMT	Brunner-Munzel-Test
HV	Hirnvolumen
CSF	Colony Stimulating Factor
DSC	Dice Similarity Coefficient
DL	Demyelination Load
ERT	Enzyme Replacement Therapy (dt.: Enzymersatztherapie)
FDR	False Discovery Rate
FLAIR	Fluid Attenuated Inversion Recovery
(FS)IQ	(Full Scale) Intelligence Quotient
GM	Grey Matter (dt.: graue Substanz)
GMFC-MLD	Gross Motor Function Classification bei MLD
HLA	Human Leukocyte Antigen
HSZ	Hämatopoetische Stammzelle
HSZT	Hämatopoetische Stammzelltransplantation
kb	Kilobase ($\hat{=}$ 1000 Nukleotide)
LEUKONET	Deutsches Leukodystrophie Netzwerk
MLD	Metachromatische Leukodystrophie
MRI-Score	MRI-Severity-Score
MRT	Magnetresonanztomographie
MWU	Mann-Whitney-U-Test
NMR	Nuclear Magnetic Resonance (dt.: Kernspinresonanz)
PNS	Peripheres Nervensystem
ZNS	Zentrales Nervensystem
VLSM	Voxel-based Lesion-Symptom Mapping
WM	White Matter (dt.: weiße Substanz)

1 Einleitung

Die Metachromatische Leukodystrophie (MLD) ist eine seltene, vererbare Stoffwechselerkrankung. Sie gehört zu der Gruppe der lysosomalen Speicherkrankheiten. In diesem Kapitel wird der aktuelle Stand der Forschung dargelegt sowie die Motivation und Zielsetzung der Dissertation erläutert. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden in Teilen vorab publiziert (s. Strölin et al. 2017).

1.1 Metachromatische Leukodystrophie im Überblick

1.1.1 Historische Entwicklung

Im Jahr 1906 beschrieb der deutsche Neuropathologe Alois Alzheimer erstmals einen Fall von progressiver seniler Demenz (Alzheimer 1906). Diese Erkrankung wird daher als Morbus Alzheimer bezeichnet. Amaducci et al. erkannten später jedoch, dass es sich bei der Krankheit dieses Patienten um eine späte Form von MLD handelte (Amaducci et al. 1991). Somit war dies die erste Dokumentation der MLD im Erwachsenenalter.

1925 erfolgte eine ausführliche Beschreibung der Krankheitsverläufe von drei an MLD erkrankten Kindern durch W. Scholz an der Universitätsklinik in Tübingen. Er beobachtete Veränderungen des Myelins und vermutete eine Fehlfunktion der Gliazellen (Scholz 1925).

1955 entwickelten Hirsch und Peiffer eine Färbetechnik mit Kresylviolett. Damit konnten spezifische Veränderungen in den betroffenen Geweben der MLD-Patienten festgestellt werden (Hirsch und Peiffer 1955). Später entdeckte Peiffer mit dieser Technik die Metachromasie in den tiefgefrorenen Gewebsschnitten der Patienten von W. Scholz. Während lange Zeit die Bezeichnung „Diffuse Hirnsklerose“ gängig war, wurde nun auch erstmals der Begriff „Metachromatische Leukodystrophie“ verwendet (Peiffer 1959).

In den Jahren 1958 und 1959 entdeckten Jatzkewitz und Austin unabhängig voneinander die Akkumulation von Sulfatiden in Gewebeproben von MLD-

Patienten (Jatzkewitz 1958, Austin 1959). 1963 gelangen Austin et al. der Nachweis eines Mangels des lysosomalen Enzyms Arylsulfatase A (ASA) (Austin et al. 1963).

Die Entschlüsselung des krankheitsverursachenden ARSA-Gens wurde 1990 von Kreysing et al. veröffentlicht (Kreysing et al. 1990).

1.1.2 Pathogenese

Bei der Metachromatischen Leukodystrophie liegt ein Mangel des lysosomalen Enzyms Arylsulfatase A (ASA) vor (Gieselmann 2008).

Arylsulfatase A ist in den Lysosomen für die hydrolytische Spaltung des Glykosphingolipids Galactocerebrosid-3-sulfat (=Sulfatid) verantwortlich. Bei MLD-Patienten findet dieser Abbau nicht ausreichend statt, was zu einer Akkumulation des Sulfatids im Zellmetabolismus führt (Gieselmann 2008).

Der Abbau von Sulfatid hängt außerdem noch von dem nichtenzymatischen Aktivatorprotein Saposin B ab; ein Defekt dieses Proteins ist jedoch deutlich seltener (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2014). Da Saposin B zusätzlich noch in den Abbau anderer Lipide involviert ist, kann das Krankheitsbild von der klassischen MLD abweichen (Sandhoff et al. 2002).

Gieselmann führt aus, dass Sulfatid als Membranprotein auf bestimmte Zelltypen beschränkt ist. Besonders hoch ist sein Anteil im Myelin des zentralen und peripheren Nervensystems. Hier wird die Myelinscheide von den Oligodendrozyten (ZNS) und den Schwann-Zellen (PNS) gebildet (Gieselmann 2008).

Die pathologische Akkumulation von Sulfatid in diesen Zellen führt zu einer progredienten Demyelinisierung. Der genaue Pathomechanismus ist derzeit noch unklar (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2010). Angenommen wird aber, dass die Sulfatidakkumulation zur Apoptose der betroffenen Zellen führt. Gieselmann und Krägeloh-Mann führen die ausgeprägte neurologische Symptomatik der MLD hauptsächlich auf die Demyelinisierung bzw. die funktionelle Schädigung von Oligodendrozyten und Schwann-Zellen zurück (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2010). Allerdings hatten Peng und Suzuki auch in den Neuro-

nen selbst Sulfatidablagerungen entdeckt (Peng und Suzuki 1987). Diesem Umstand wird eine mögliche Beteiligung an der initialen Symptomatik der Erkrankung eingeräumt (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2010).

Sulfatid fällt darüber hinaus in den Viszeralorganen Niere, Leber und Gallenblase an (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2014), allerdings entsteht hierdurch nur eine geringe oder keine funktionale Beeinträchtigung der Organe (Gieselmann 2008).

Bereits 1989 fanden Gieselmann et al. eine verminderte Enzymaktivität der ASA in klinisch gesunden Menschen. Diese sogenannte Arylsulfatase A-Pseudodefizienz (ASA-PD) ist auf ein mutiertes Allel zurückzuführen, welches eine Enzymrestaktivität von ca. 10% des normalen Wertes zulässt (Gieselmann et al. 1989).

1.1.3 Histopathologie

Haberland et al., von denen eine der umfangreichsten Untersuchungen der Histopathologie stammt, beschrieben im Jahr 1973, dass lichtmikroskopisch besonders die diffusen und massiven Verluste des Myelins in der hemisphärischen weißen Substanz (white matter, WM) des Gehirns auffallend sind. Dabei sind die direkt subkortikal gelegenen U-Fasern (kurze Assoziationsfasern) noch erhalten (Haberland et al. 1973).

Unter Kresylviolett-Färbung beschrieben Haberland et al. dicht gepackte und körnige braunverfärbte Granula. Die Einschlusskörperchen zeigen elektronenmikroskopisch überwiegend lamellenartige Anordnungen. Diese Metachromasie ist namensgebend für die MLD.

Chemisch konnte in den metachromatischen Granula eine hohe Konzentration an Sulfatiden nachgewiesen werden (Suzuki et al. 1967). Somit sind sie das histologische Korrelat zu den Myelinabbauprodukten und der Akkumulation des Sulfatids.

Die Einschlusskörperchen fanden Haberland et al. vor allem freiliegend im Parenchym, in Makrophagen und an den Fortsätzen der Astrozyten (Haberland et

al. 1973). Heute ist bekannt, dass es außerdem zu Lipidablagerungen in Oligodendrozyten und Neuronen sowie zur Astrogliose und Aktivierung der Mikroglia kommt (Gieselmann et al. 2003).

Im Kleinhirn wurden, neben der charakteristischen Demyelinisierung und Metachromasie, der Untergang von Purkinje- und Körnerzellen festgestellt (Haberland et al. 1973). Analog zu den Befunden im ZNS zeigten die Nervenfasern des PNS Degenerationen des Myelins mit Einschlusskörperchen in den Histozyten und Schwann-Zellen.

Auch Leber und Nierentubuli wiesen starke Anhäufungen metachromatischer Granula auf (Haberland et al. 1973).

1.1.4 MLD-Mausmodelle

Um die histopathologischen und zellulären Folgen der Sulfatidablagerung besser zu verstehen, wurden Tiermodelle konzipiert. Hess et al. untersuchten ASA-Knockout-Mäuse, bei welchen das ARSA-Gen komplett inaktiviert und keine Enzymaktivität mehr vorhanden war (Hess et al. 1996). Der menschliche Körper entwickelt unter diesen Voraussetzungen die schwere Frühform der MLD (= spät-infantile MLD) mit starker Demyelinisierung.

Die Verteilung der Sulfatidablagerungen im Körper dieser Mäuse gleicht denen beim Menschen (Schott et al. 2001). Überraschenderweise bleibt das Charakteristikum der MLD, die Demyelinisierung des ZNS, aus (Hess et al. 1996, Sevin et al. 2006). Es zeigen sich zwar Auffälligkeiten (Signalhyperintensitäten) auf T2-gewichteten Bildern der Magnetresonanztomographie (MRT), allerdings hat die Sulfatidablagerung in den Oligodendrozyten der Mäuse selbst im Alter von 2 Jahren nur zu milden Anzeichen der Demyelinisierung geführt (Gieselmann et al. 2003). Wie diese MRT-Auffälligkeiten der Mäuse zu verstehen sind, bleibt daher aktuell noch offen.

Dennoch weisen die ASA-negativen Mäuse im Alter von 6 Monaten progressive motorische und kognitive Symptome auf (D'Hooge et al. 2001). Möglicherweise sind die Symptome weniger der Demyelinisierung, sondern eher der ebenfalls

vorhandenen Lipidablagerung in den Neuronen des ZNS zuzuschreiben (Wittke et al. 2004). Die Frage nach der Korrelation zwischen Ausprägungsgrad der Demyelinisierung und der Symptomatik der MLD ist ein Anliegen dieser Arbeit.

Zudem zeigen die Mäuse eine Astrogliose mit Aktivierung der Mikroglia sowie Veränderungen in der Zusammensetzung der Membranbestandteile (Hess et al. 1996). Beides scheint die Pathogenese der MLD zu beeinflussen.

Der Grund für die fehlende Demyelinisierung wird in der unzureichenden Menge an Sulfatidablagerungen bei den ASA-negativen Mäusen vermutet (Gieselmann 2008). Bei Mäusen im Alter von 2 Jahren kann eine 1,4fache Erhöhung der Sulfatidakkumulation nachgewiesen werden (Saravanan et al. 2004). Bei Autopsien menschlicher Patienten ist dieser Wert um das 3-7fache erhöht (von Figura et al. 2001).

Um die lysosomale Speicherung von Sulfatid zu erhöhen, muss dessen Umsatz in der Zelle erhöht werden. Zu diesem Zweck wurden transgene Mäuse mit ASA-negativen Mäusen gekreuzt (Ramakrishnan et al. 2007). Die transgenen Mäuse exprimieren ein Enzym zur gesteigerten Sulfatidsynthese in Oligodendrozyten und Schwann-Zellen.

Verglichen mit den ursprünglichen ASA-negativen, weisen die transgen/ASA-negativen Mäuse eine 2-3fach höhere Sulfatidanhäufung auf. Ramakrishnan et al. konnten weiterhin zeigen, dass es bei diesen Mäusen im PNS und ZNS zur Demyelinisierung und der Ausbildung schwerer neurologischer Symptome ab einem Alter von 16 Monaten kommt (Ramakrishnan et al. 2007).

Das Mausmodell von Ramakrishnan et al. kommt damit dem menschlichen Phänotyp näher (2007). Inwiefern die Demyelinisierung beim Menschen mit der MLD-Symptomatik korreliert, ist noch nicht genau geklärt.

1.1.5 Genetik

Die MLD wird autosomal-rezessiv vererbt und durch Mutationen im ARSA-Gen hervorgerufen (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2014). Daher ist sie monogenetisch und über die Geschlechter gleichmäßig verteilt.

Das ARSA-Gen hat eine Größe von 3,2 Kilobasen und besteht aus 8 Exons (s. Abb. 1) (Kreysing et al. 1990). Es befindet sich auf dem langen Arm des Chromosoms 22 (22q13.31) (Bruns et al. 1978, Phelan et al. 1992).

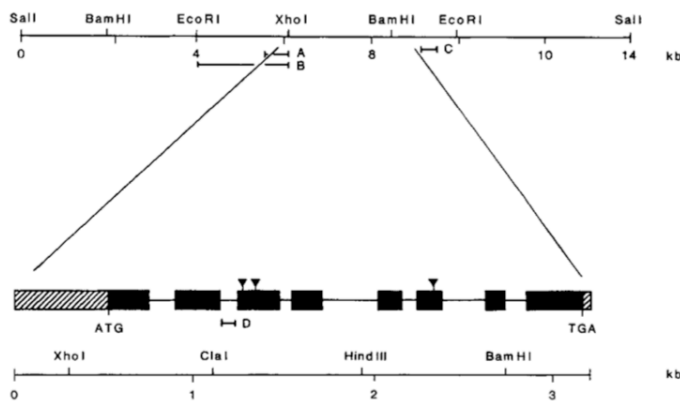


Abb. 1: Struktur des ARSA-Gens. Oben in der Abbildung ist das 14kb große Insert dargestellt, auf dem Kreysing et al. das lysosomale ARSA-Gen lokalisierten (Kreysing et al. 1990). Das ARSA-Gen befindet sich auf dem EcoRI-Subfragment und ist unten vergrößert abgebildet. Das Gen ist 3,2kb groß und besteht aus 8 Exons (schwarze Boxen). Die Exons haben eine Größe von 103 bis 320 Nukleotiden. Schraffierte Boxen kennzeichnen untranslatierte Bereiche und Dreiecke mögliche Glykosylierungsstellen. ATG steht für die Initiatorsequenz und TGA für die Terminatorsequenz (Kreysing et al. 1990).

Über 160 verschiedene Mutationen des Gens wurden bereits gefunden (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2014). Die große Mehrheit sind dabei Missense-Mutationen (von Figura et al. 2001). Gieselmann und Krägeloh-Mann teilen die fehlerhaften Allele in Nullallele (kein funktionales Enzym kann gebildet werden) und R-Allele (geringe Restenzymaktivität erhalten) ein (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2014).

Die MLD ist damit eine genetisch heterogene Krankheit, bei der 3 Allele gehäuft vorkommen (Polten et al. 1991, Berger et al. 1997). Die mit 15-43% der Fälle häufigste Mutation liegt am Übergang von Exon 2 zu Intron 2 auf der splice-donor-site. Durch die Mutation kommt es zu fehlerhaftem Splicing, woraus ein Nullallel entsteht (Polten et al. 1991, Berger et al. 1997).

16-25% entfallen auf eine Missense-Mutation, die für den Austausch der Aminosäuren Prolin durch Leucin an der Stelle 426 verantwortlich ist. Hierbei entsteht ein R-Allel (Polten et al. 1991, Berger et al. 1997).

12-13% der europäischen Patienten weisen eine Missense-Mutation an Stelle 99 auf, bei welcher Isoleucin mit Leucin vertauscht ist (Berger et al. 1997).

Eine Korrelation zwischen Genotyp und Phänotyp wurde mehrfach beschrieben (Polten et al. 1991, Berger et al. 1997, Cesani et al. 2009). Auch biochemisch gelang die Korrelation zwischen Genotyp und Enzymrestaktivität (Conzelmann und Sandhoff 1991). Die spät-infantile Form wird von Patienten entwickelt, die homozygot für ein Nullallel sind. Träger eines Null- und eines R-Alleles (Heterozygotie) bilden in der Regel das klinische Bild der juvenilen MLD aus. Homozygotie für ein R-Allel hat zumeist die adulte Verlaufsform als Folge. Für die beiden letzten Genotypen sind auch Ausnahmen beschrieben (Polten et al. 1991). Eine Vorhersage über den individuellen klinischen Verlauf ist anhand der Genetik aktuell nicht möglich. Ob die MRT-Diagnostik dazu in Zukunft in der Lage sein wird, muss noch überprüft werden.

1.1.6 Epidemiologie

Die Inzidenz der MLD wird mit 1:100.000 Lebendgeburten in der europäischen Bevölkerung beschrieben (Heim et al. 1997, Poorthuis et al. 1999).

Dabei leiden 40-50% der Patienten an der spät-infantilen, 30-40% an der juvenilen und 18-20% an der adulten Verlaufsform der MLD (Heim et al. 1997, Poorthuis et al. 1999, Lugowska et al. 2005).

Eine ASA-PD liegt bei ca. 1-2% der kaukasischen Bevölkerung vor (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2014).

1.1.7 Klinisches Krankheitsbild

Die MLD ist im Hinblick auf das Alter, in dem erste Symptome auftreten, der Art der ersten Symptomatik und der Dynamik des Krankheitsverlaufs eine sehr heterogene Erkrankung (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2010). Man teilt sie nach dem Zeitpunkt des Krankheits-Onset in drei klinische Verlaufsformen ein (Moser und Lees 1965, MacFaul et al. 1982, Kehrer et al. 2011b).

Patienten mit spät-infantiler MLD haben ihren Krankheits-Onset in den ersten 30 Lebensmonaten. Nach einer zunächst regelrechten Entwicklung treten die Symptome häufig im 2. Lebensjahr auf und nehmen dann einen schweren Verlauf (Kehrer et al. 2011b).

Die ersten Auffälligkeiten sind häufig Bewegungs- und Gangstörungen, welche in eine rapide Verschlechterung der grobmotorischen Fähigkeiten übergehen (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2014). Bewertungen der grobmotorischen Fähigkeiten können anhand des GMFC-MLD-Scores (gross motor function classification in MLD) erfolgen (Kehrer et al. 2011a). In der Folgezeit tritt insgesamt ein rascher Progress mit kognitivem Abbau und komplettem Sprachverlust ein (Kehrer et al. 2014). Die spät-infantile MLD verläuft in der Regel innerhalb weniger Jahre tödlich und hat im Gegensatz zu den anderen Formen einen relativ stereotypen Verlauf (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2014).

Bei der juvenilen Verlaufsform treten erste Symptome im Alter von 2,5 bis 16 Jahren auf (Kehrer et al. 2011b). Frühe Anzeichen sind häufig unspezifisch und äußern sich oft in nachlassenden schulischen Leistungen und psychiatrischen Auffälligkeiten (von Figura et al. 2001, Colsch et al. 2008, Kehrer et al. 2014). Neben Gangauffälligkeiten gehören Koordinationsprobleme und Verschlechterung der Feinmotorik zu den frühen Symptomen (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2014). Nach Auftritt erster Veränderungen im Gangbild bleiben 84% für mindestens 1 Jahr und 51% der Patienten für mindestens 2 Jahre klinisch stabil (Kehrer et al. 2011b). Der Verlust des eigenständigen Gehens ist, wie auch bei den spät-infantilen Patienten, der Startpunkt eines raschen Progresses des Krankheitsbildes. Kehrer et al. beschreiben diesen Vorgang, ebenso wie die

Verschlechterung und den Verlust der Sprache, bei den juvenilen Patienten aber als protrahierter (Kehrer et al. 2011b, Kehrer et al. 2014).

Die Dynamik der Erkrankung ist somit, besonders im Vergleich zur spät-infantilen Form, sehr variabel; manche juvenile Patienten bleiben auch bis in das Erwachsenenalter stabil (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2010).

Tritt der Beginn der Symptomatik erst nach dem 16. Lebensjahr auf, wird dies als adulte MLD bezeichnet. Der langsame Abbau der intellektuellen Fähigkeiten, Gedächtnisschwäche, emotionale Instabilität, Verhaltensauffälligkeiten und psychiatrische Symptome sind charakteristisch hierfür (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2014). Die Erkrankungsvariante hat einen deutlich protrahierten Verlauf; die mittlere Überlebensdauer ab dem Zeitpunkt der Diagnose beträgt 12 Jahre (Hageman et al. 1995) und es wurden Patienten bis zu einem Alter von 63 Jahren beschrieben (Duyff und Weinstein 1996).

Aufgrund der psychiatrischen Symptomatik werden die adulte und juvenile MLD gelegentlich als psychiatrische und psychologische Erkrankungen fehldiagnostiziert (Sadovnick et al. 1993, Shapiro et al. 1994).

1.1.8 Diagnostik

Die Verdachtsdiagnose MLD wird anhand der oben beschriebenen klinischen Symptomatik gestellt. Weitere spezifische Diagnostik sollte immer erfolgen, sobald der Verdacht der Schädigung der weißen Substanz und der peripheren Neuropathie vorliegt. Zur Abklärung eignen sich hier die MRT des Kopfes und die Messung der Nervenleitgeschwindigkeit (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2014). Die Diagnosestellung erfolgt auch über biochemische Verfahren. Hier beruht die Diagnostik auf dem Fehlen von ASA / Saposin B und der erhöhten Ausscheidung von Sulfatid im Urin (Austin et al. 1963, Austin et al. 1965).

Die Messung der Enzymaktivität der ASA wird heute meistens mit modifizierten Varianten des Verfahrens nach Baum et al. durchgeführt (Baum et al. 1959). Gewonnen wird das Enzym dabei aus Leukozyten des peripheren Blutes, ASA kommt jedoch ubiquitär im menschlichen Körper vor (Porter et al. 1969, Beratis

et al. 1973, Dubois et al. 1980). Die entnommene ASA spaltet zunächst ein in der Regel synthetisches Substrat. Zur Bestimmung der Enzymaktivität, werden die dabei entstandenen Metabolite mittels Photometrie und Fluoreszenzspektroskopie gemessen (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2014).

Um die MLD vom Saposin B-Mangel und der ASA-PD zu differenzieren, wird häufig die Sulfatidausscheidung im Urin bestimmt (siehe Tab. 1). MLD und Saposin B-Mangel-Patienten scheiden extrem hohe Konzentrationen an Sulfatid aus, welches hauptsächlich aus den Nieren stammt (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2014). Menschen mit ASA-PD können ebenfalls erhöhte Sulfatidwerte im Urin aufweisen, allerdings sind diese um ein Vielfaches geringer im Vergleich zu erkrankten Patienten (Molzer et al. 1992). Die Quantifizierung erfolgt mittels Dünnschichtchromatographie und Massenspektrometrie (Philippart et al. 1971, Strasberg et al. 1985).

Tab. 1: Diagnostik und Differentialdiagnosen bei MLD. Die Tabelle stellt typische Kriterien der MLD-Diagnostik dar.

Differentialdiagnose	ASA Enzymaktivität	Sulfatidkonzentration im Urin
MLD	↓	↑
ASA-PD	↓	→
Saposin B-Mangel	→	↑

Bestätigen lässt sich eine vorliegende MLD über die genetische Sequenzierung des ARSA-Gens. Aufgrund der großen Heterogenität kann auch eine bisher unbekannte Mutation festgestellt werden (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2014).

Pränataldiagnostisch kann die ASA-Aktivität aus Biopsien der Chorionzotten sowie aus kultivierten Amnion- und Chorionzottenzellen ermittelt werden (Leroy et al. 1973, Desnick et al. 1992).

1.2 MRT bei MLD

1.2.1 Technische und physikalische Grundlagen

Die MRT stellt die Grundlage für die Datengewinnung dieser Arbeit dar und wird deshalb in kurzen Zügen erläutert. Für technische Details wird auf entsprechende Fachliteratur verwiesen.

Atomkerne (Protonen) besitzen eine Eigenrotation (Spin). Dadurch erhalten sie den Charakter eines magnetischen Dipols. Aufgrund des hohen Vorkommens an Wasserstoff im menschlichen Körper spielen Protonen für die MRT-Diagnostik die größte Rolle (Ganssen 1984).

Die Protonen werden in einem konstanten äußeren Magnetfeld gleichsinnig ausgerichtet. Senkrecht zu dem Magnetfeld wird ein Hochfrequenzfeld angelegt, welches die Protonen durch seine Impulse auslenkt. Durch die Auslenkung ändern sie ihre Magnetisierungsrichtung, wodurch in den Detektorspulen des MRTs eine Wechselspannung induziert wird. Dies wird als kernmagnetische Resonanz (NMR) bezeichnet (Ganssen 1984).

Je nach Gewebe unterscheidet sich die NMR in der Stärke der induzierten Spannung, der Zeitspanne bis diese messbar wird (Echozeit TE) und im Zeitraum bis die Protonen wieder in ihre Ausgangsposition zurückgekehrt sind (Relaxationszeit). Mit diesen Informationen können die NMRs als Bild- und Ortsfunktion wiedergegeben werden (Ganssen 1984, Clas 2013).

Durch Variation der Messparameter wie z.B. Feldstärke und Impulsfrequenz bzw. Repetitionszeit TR (Zeit zwischen zwei Impulsen) ergeben sich unterschiedliche MRT-Gewichtungen. Diese stellen sich im Bild als Kontraste dar. Die T1- und T2-Gewichtungen unterscheiden sich v.a. in der jeweiligen Einstellung von TR und TE (Ganssen 1984, Clas 2013).

Das Myelin besteht zu großen Teilen aus Lipiden. Aufgrund des hohen Fettgehalts wird es in der T1-Gewichtung signalreich (hell) und in der T2-Gewichtung signalarm (dunkel) im Vergleich zum Liquor (oder Kortex) dargestellt (Barkovich 2000). Der Liquor (CSF) wird hingegen wegen seines großen Wasseranteils im T1-gewichteten Bild signalarm und im T2-gewichteten Bild signalreich abgebil-

det. Die graue Substanz (grey matter, GM) nimmt bei beiden Gewichtungen jeweils eine Signalintensität dazwischen ein (Ganssen 1984, Weishaupt et al. 2006).

Die FLAIR-Einstellung (fluid attenuated inversion recovery) vereint die T2-Gewichtung mit der Unterdrückung des CSF-Signals, sodass der Liquor hier dunkel erscheint (Brant-Zawadzki et al. 1996).

1.2.2 Darstellung der Gehirnveränderungen bei MLD

Die demyelinisierenden Prozesse in den Gehirnen der MLD-Patienten zeigen im MRT eine charakteristische Morphologie. Im T2-gewichteten Bild erscheint die weiße Substanz bei gesunden Menschen hypointens (Schiffmann und van der Knaap 2009). Daher sind in dieser Gewichtung demyelinisierte Areale mit hoher Sensitivität als hyperintens auszumachen.

Diese Hyperintensitäten beschreiben Gieselmann und Krägeloh-Mann als symmetrisch in beiden Hemisphären vorkommende, konfluierende Areale. Innerhalb der Areale findet sich häufig ein typisch „trigoides“ Streifenmuster (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2010).

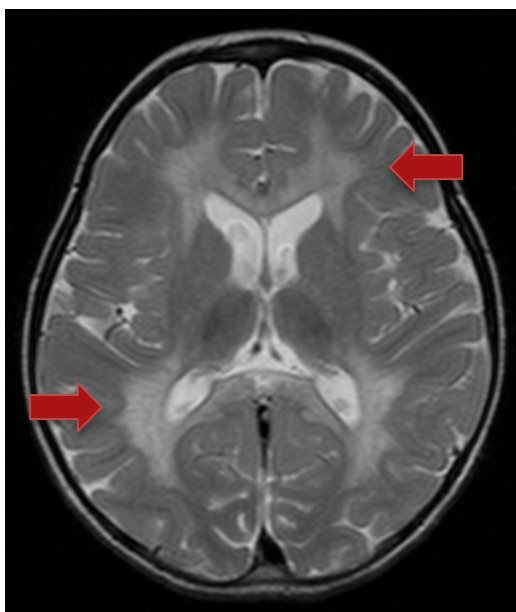


Abb. 2: Typischer MRT-Befund bei MLD. Die Abbildung zeigt typische frontal und parieto-okzipital lokalisierte Hyperintensitäten in einem T2-gewichteten axialen MRT-Bild.

Zu den früh betroffenen Regionen gehören die zentrale weiße Substanz, die periventrikulären Bereiche sowie das Corpus Callosum (Groeschel et al. 2011).

Groeschel et al. konnten in ihrer systematischen Analyse einer großen Kohorte die progrediente Beteiligung der subkortikalen U-Fasern, der Capsula interna und des Pons mit fortschreitendem Krankheitsverlauf nachweisen (Groeschel et al. 2011).

Im späten Stadium der Erkrankung findet sich eine zerebrale Atrophie, welche mit Zunahme der inneren und später auch der äußeren Liquorräume einhergeht (Groeschel et al. 2011). Zu diesem Zeitpunkt kann auch das Kleinhirn von der Demyelinisierung und Atrophie betroffen sein (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2010).

Das Verteilungsmuster breitet sich bei spät-infantilen Patienten im Allgemeinen von parieto-okzipital aus; juvenile Patienten weisen dagegen eine frühe frontalbetonte Beteiligung auf (Groeschel et al. 2011).

Zur Quantifizierung der Gehirnveränderungen bei MLD wurde der MRI-Severity Score (kurz: MRI-Score) eingeführt (Eichler et al. 2009). Hier werden definierte Hirnregionen je nach Ausmaß der Betroffenheit mit 0-2 Punkten bewertet (0 = normal; 1 = leichte; 2 = starke Betroffenheit; max. Score: 34).

Um einen objektivierbaren Verlaufsparemeter zur genaueren Quantifizierung der Demyelinisierung zu erhalten, wurde der Demyelination Load (DL) eingeführt (Groeschel et al. 2012). Clas beschreibt den Demyelination Load als „pathophysiologisches Korrelat der Erkrankung“, welches das Volumen der Demyelinisierung in Millilitern misst (Clas 2013). Weiter erklärt er, dass die Messung nichtinvasiv und anhand von T2-gewichteten MRT-Aufnahmen erfolgt. In den axialen Aufnahmen werden die hyperintens abgebildeten Hirnanteile unter Verwendung einer Computersoftware quantifiziert (Clas et al. 2012).

Um die Quantifizierung des Demyelination Loads durchzuführen muss zunächst eine Segmentierung der Datensätze erfolgen. Segmentierung wird von Clas als „der Prozess der Zuordnung von Voxeln zu Klassen einzelner Hirnstrukturen oder -regionen“ definiert (Clas 2013). Ein Voxel stellt vereinfacht gesagt einen volumetrischen Bildpunkt im dreidimensionalen Raum dar. Nachdem ein Segment definiert wurde, kann sein Volumen berechnet werden (Clas 2013).

2012 haben Clas et al. einen semi-automatischen Algorithmus zur Segmentierung von MRT-Datensätzen veröffentlicht, der dem Anwender die effiziente Bestimmung des Demyelination Loads ermöglicht (Clas et al. 2012).

Es konnte bereits gezeigt werden, dass der Demyelination Load bei spät-infantilen Patienten mit der Dauer der Erkrankung und dem Abbau der motorischen Funktion korreliert (Groeschel et al. 2012). Auch eine negative Korrelation zum Gesamt-IQ konnte kürzlich dokumentiert werden (Tillema et al. 2015). Darüber hinaus scheint er als Marker für Progress und Therapieansprechen eine sensitivere Verlaufskontrolle als bisherige Parameter zu ermöglichen (Krägeloh-Mann et al. 2013). In dieser Arbeit wird daher der Demyelination Load für die Bewertung des Therapieerfolges der hämatopoetischen Stammzelltransplantation verwendet. Die Untersuchung des Demyelination Loads in einer Gruppe behandelter und unbehandelter Patienten soll Aufschluss über die Bedeutung der Demyelinisierung für Krankheitsverlauf und Therapieansprechen geben.

1.3 Hämatopoetische Stammzelltransplantation bei MLD

1.3.1 Allgemeine Therapieoptionen bei MLD

Zum heutigen Zeitpunkt existiert keine kurative Therapie für die MLD. Die Therapieoptionen beschränken sich derzeit vor allem auf die Behandlung der Symptomatik. Lediglich die hämatopoetische Stammzelltransplantation ist bisher als Therapieverfahren verfügbar. Weitere vielversprechende Therapieansätze befinden sich in der Entwicklungsphase und zeigten in ersten Studien Erfolge (Krägeloh-Mann und Groeschel 2016).

Einen Ansatz stellt die Enzymersatztherapie (ERT) dar. Matzner et al. konnten bereits 2005 einen positiven Benefit der ERT im Mausmodell nachweisen (Matzner et al. 2005). Durch intravenöse Applikation von rekombinanter humaner ASA wurde sowohl in der Niere als auch im peripheren und zentralen Nervensystem eine Besserung der Sulfatidakkumulation festgestellt. Damit einhergehend beschrieben Matzner et al. eine verbesserte neuromotorische Funktion

(Matzner et al. 2005). Mittlerweile ist auch bekannt, dass die Abnahme der Sulfatidablagerung im ZNS dosisabhängig und in den Hirnregionen unterschiedlich stark ausgeprägt ist (Matzner et al. 2009). Weiter konnte gezeigt werden, dass die Wirkung der intravenösen ERT mit Krankheitsprogress abnimmt und auch keine Umkehr der Demyelinisierung möglich ist (Matthes et al. 2012).

Um die Blut-Hirn-Schranke zu umgehen, können die Infusionen auch intrazerebral appliziert werden (Stroobants et al. 2011). Bei dieser Herangehensweise zeigte sich eine komplette Aufhebung der lysosomalen Lipidakkumulation im Injektionsgebiet. Zudem dokumentierten Stroobants et al. ebenfalls Verbesserungen des Gangbildes (Stroobants et al. 2011). Auf Ergebnisse von klinischen Studien bei Menschen muss noch gewartet werden.

Vielversprechende Ergebnisse konnte auch die Erforschung der Gentherapie liefern. 2006 transplantierten Biffi et al. genetisch modifizierte humane Stammzellen in MLD-Mäuse (Biffi et al. 2006). Mittels Lentiviren als Vektoren wurde das ARSA-Gen zuvor auf Stammzellen übertragen. Dadurch konnten Biffi et al. die Überexpression des Enzyms in den Mikroglia des ZNS bewirken (Biffi et al. 2006). Einhergehend mit der gesteigerten ASA-Produktion zeigten die Tiere eine Verbesserung der klinisch-neurologischen und histopathologischen Symptomatik (Biffi et al. 2006).

Dieses Vorgehen wurde bei 3 präsymptomatischen spät-infantilen Patienten angewandt (Biffi et al. 2013). Im Liquor konnten nach der Therapie hohe Konzentrationen an ASA nachgewiesen werden; bei keinem der Kinder war 7-21 Monate nach dem erwarteten Krankheits-Onset ein Progress der Krankheit zu beobachten (Biffi et al. 2013). Dieselbe Gruppe berichtete kürzlich über einen etwas längeren Verlauf bei jetzt 7 Kindern mit spät-infantiler MLD und damit einen therapeutischen Benefit durch die Gentherapie, allerdings müssen Langzeitstudien noch abgewartet werden (Sessa et al. 2016).

Ebenfalls ist es möglich, das ARSA-Gen mittels Adeno-assoziierten Viren direkt in das Gehirn zu injizieren (Sevin et al. 2006). Dadurch konnte eine hohe Verfügbarkeit von ASA im ZNS erreicht werden. In der Folge konnten Sevin et al. die Sulfatidakkumulation reduzieren und präsymptomatische ASA-Mäuse wur-

den vor der Ausbildung motorischer Symptome geschützt (Sevin et al. 2006). Die Ergebnisse der Phase I/II Studie beim Menschen stehen jedoch noch aus.

1.3.2 Die Stammzelltransplantation

Bei der Stammzelltransplantation werden multipotente hämatopoetische Stammzellen (HSZ) transplantiert. Diese Zellen kommen v.a. im Knochenmark vor und sind undifferenziert. Durch ihre Fähigkeit sich ständig selbst zu erneuern und in alle Zellen des hämatopoetischen Systems zu differenzieren, haben sie einen hohen Stellenwert in der Therapie unterschiedlichster Erkrankungen (Lüllmann-Rauch 2012).

Lüllmann-Rauch erklärt, dass die Übertragung der Stammzellen früher hauptsächlich als Knochenmarktransplantationen durchgeführt wurde. Da Stammzellen in geringer Menge auch im peripheren Blut vorkommen, können sie zur hämatopoetischen Stammzelltransplantation (HSZT) auch aus dem Blut des Spenders gewonnen werden (Lüllmann-Rauch 2012). Mittels Zytokinen, sog. colony stimulating factors (z.B. G-CSF), kann der Übertritt der Stammzellen aus dem Knochenmark in das Blut induziert werden (Lüllmann-Rauch 2012, Krägeloh-Mann et al. 2013). Krägeloh-Mann et al. verwenden daraufhin immunomagnetische Verfahren, um die Stammzellen anhand des Oberflächenmoleküls CD34 von den anderen zirkulierenden Zellen zu trennen (Krägeloh-Mann et al. 2013)

Da bei vielen Erkrankungen unterschiedlicher Ursache (u.a. MLD) nur die Stammzellübertragung von einem gesunden zu einem betroffenen Menschen (allogene Transplantation) hilfreich ist, müssen Empfänger und Spender HLA-identisch sein (Herold 2014). Ansonsten kann es zu schwerwiegenden Graft-versus-Host-Reaktionen kommen. Um dies zu verhindern, wird der Empfänger vor der Transplantation mit Immunsuppressiva vorbehandelt (Herold 2014).

Sollte kein HLA-kompatibles Familienmitglied vorhanden sein, kann sich die Suche nach einem geeigneten Spender kompliziert gestalten und Monate bis Jahre in Anspruch nehmen (Kernan et al. 1993). Es kann auch der Fall eintre-

ten, dass kein geeigneter Spender gefunden wird. Eine alternative Gewinnung der Stammzellen kann aus Nabelschnurblut vorgenommen werden. Wagner et al. bestätigten, dass hierbei auch eine geringere HLA-Übereinstimmung genügt (Wagner et al. 1996).

1.3.3 Stammzelltransplantation bei MLD

Das Ziel der hämatopoetischen Stammzelltransplantation ist es, den ASA-Mangel der Gliazellen im Gehirn zu reduzieren. Je nach Zelltyp werden 10-30% der lysosomalen Enzyme sezerniert und den umgebenden Zellen zur Verfügung gestellt (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2014). Mit Hilfe des Mannose-6-Phosphat-Rezeptors können die Zielzellen das Enzym endozytieren und somit ihren Mangel ausgleichen (Patil und Maegawa 2013).

Die HSZ differenzieren sich beim Empfänger zu Monozyten und sind daher in der Lage die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden. Im ZNS lagern sie sich als perivaskuläre Mikroglia im Hirnparenchym ab (Asheuer et al. 2004). Dort stellen sie ASA für die umgebenden enzymdefizienten Gliazellen bereit (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2014). Die Ablagerung von Mikroglia im ZNS nimmt mehrere Monate bis Jahre in Anspruch (Kennedy und Abkowitz 1997, Varvel et al. 2012). Dies erklärt die lange Zeit bis zum Ansprechen der Therapie.

1.3.4 Bisherige Studien

Seit einigen Jahren werden Stammzelltransplantationen an MLD-Patienten durchgeführt. Die Bewertung der Ergebnisse ist in der Literatur jedoch sehr unterschiedlich, sodass über den tatsächlichen Wert der hämatopoetischen Stammzelltransplantation nach wie vor diskutiert wird. Besonders bei juvenilen und adulten Patienten liegt die Schwierigkeit der Beurteilung darin, dass die Verläufe sehr individuell sind und selbst innerhalb einer Familie stark variieren können (Clarke et al. 1989, Arbour et al. 2000). Zudem fehlt vielen Studien der Vergleich des Krankheitsverlaufs von transplantierten Patienten mit einer unbehandelten Patientenkohorte (Groeschel et al. 2014).

Es konnte gezeigt werden, dass bereits symptomatische Patienten der spät-infantilen MLD keinen Vorteil durch die Stammzelltransplantation erhalten (Hoogerbrugge et al. 1991, Malm et al. 1996). Inwiefern eine Transplantation deutlich vor Symptomatik-Onset den Krankheitsverlauf beeinflusst, ist noch nicht abschließend geklärt. Zuletzt wurde allerdings beobachtet, dass transplantierte spät-infantile Patienten im Vergleich zum natürlichen Krankheitsverlauf über der 90. Perzentile für den Zeitpunkt von Motorik- und Sprachverlust liegen (Kehrer et al. 2013). Auch das Alter überschreitet die allgemeine Lebenserwartung der unbehandelten spät-infantilen Patienten (Boucher et al. 2015).

Durch den stark individuellen Verlauf der juvenilen Patienten ist es schwierig eine Symptomverbesserung bzw. -verschlechterung auf den Erfolg oder Misserfolg der Therapie zu beziehen (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2014). Daher verglichen Krägeloh-Mann et al. 2013 eine 15-jährige juvenile Patientin nicht nur mit ihrer nicht-transplantierten Schwester, sondern auch mit einer Kontrollkohorte juveniler Patienten ohne Stammzelltransplantation (Krägeloh-Mann et al. 2013). Die Indexpatientin war mit fünf Jahren präsymptomatisch transplantiert worden. Die Zeit, welche bei dieser Patientin bis zum Verlust des selbstständigen Gehens verging, lag dabei weit über der 90. Perzentile der Patienten ohne Transplantation. Auch der anschließende motorische Abbau stellte sich deutlich protrahiert im Vergleich zur Kohorte dar. Krägeloh-Mann et al. bemerkten außerdem, dass ein Vorteil zur nicht-transplantierten Schwester erst 4 Jahre nach der Transplantation im klinischen Verlauf deutlich wurde (Krägeloh-Mann et al. 2013).

Daraus kann geschlossen werden, dass die rechtzeitig vorgenommene Transplantation den Verlauf bei der juvenilen MLD deutlich stabilisieren und milder gestalten kann. Dabei muss die Transplantation zeitlich ausreichend vor dem Verlust des selbstständigen Gehens stattfinden, da ab diesem Zeitpunkt der Krankheitsfortschritt ähnlich rapide wie bei spät-infantilen Patienten vorstattengeht (Krägeloh-Mann et al. 2013).

Kürzlich beschrieben Groeschel et al. in einer kontrollierten, multizentrischen Studie, dass stammzelltransplantierte Patienten der juvenilen MLD eine besse-

re grobmotorische und sprachliche Funktion aufweisen als die nicht-transplantierten Patienten. Auch der MRI-Severity-Score war bei den transplantierten Patienten geringer (Groeschel et al. 2016)

Bemerkenswert ist noch die Beobachtung, dass viele Patienten unmittelbar nach der Stammzelltransplantation eine neurologische Verschlechterung zeigen (Boucher et al. 2015).

Die Erfahrungen mit Stammzelltransplantationen bei Patienten der adulten MLD sind deutlich geringer (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2014). Generell gelten die gleichen Voraussetzungen wie für juvenile Patienten: Eine Transplantation sollte am besten präsymptomatisch, vor der Ausbildung schwerer neurologischer Symptome erfolgen (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2010).

Es muss zudem bedacht werden, dass die Mortalität bei Stammzelltransplantationen für Kinder mit lysosomalen Speicherkrankheiten bei 10-25% liegt (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2014, Groeschel et al. 2016). Daher muss vor einer Transplantation das Risiko gegenüber dem Benefit des Patienten abgewogen werden. Besonders wegen der uneinheitlichen Ergebnisse zum Nutzen der Stammzelltransplantation und den variablen Krankheitsverläufen müssen exakte Parameter zur Beurteilung des Therapieerfolges etabliert werden. Hierzu soll der Demyelination Load dienen. Zudem muss untersucht werden, ob anhand seiner Quantifizierung eine Vorhersage über das Transplantationsansprechen möglich ist.

1.3.5 Gehirnveränderungen im MRT unter Stammzelltransplantation

Zum Transplantationszeitpunkt zeigte die oben beschriebene Indexpatientin von Krägeloh-Mann et al. umschriebene periventrikuläre und zentrale Hyperintensitäten in der T2-gewichteten MRT-Aufnahme (s. Abb. 3) (Krägeloh-Mann et al. 2013). 16 Monate später haben diese Veränderungen zugenommen. Ein weiteres Jahr später und auch in der Folgezeit besserte sich der MRI-Severity Score jedoch wieder ungefähr auf die Werte vor der Stammzelltransplantation (von MRI-Score 16 auf 13). Auch der Demyelination Load hat sich im Vergleich

zu der Messung 16 Monate nach der Transplantation (DL=52ml) 10 Jahre später stark gebessert (DL=24ml) (Krägeloh-Mann et al. 2013). Der Rückgang der Demyelinisierung kann ebenfalls deutlich beobachtet werden, wenn diese Veränderungen in Relation zum gesamten Hirnvolumen gesetzt werden.

Im Vergleich zur transplantierten Patientin konnten Krägeloh-Mann et al. deutliche Unterschiede in den MRT-Aufnahmen der nicht-transplantierten Schwester feststellen (Krägeloh-Mann et al. 2013). Sowohl der MRI-Score (MRI-Score 31) als auch der Demyelination Load (DL=109ml) lagen 11,5 Jahre nach Krankheits-Onset deutlich über den Werten der Indexpatientin (Krägeloh-Mann et al. 2013). Zu Beginn der Erkrankung waren die MRT-Ergebnisse der Geschwister vergleichbar.

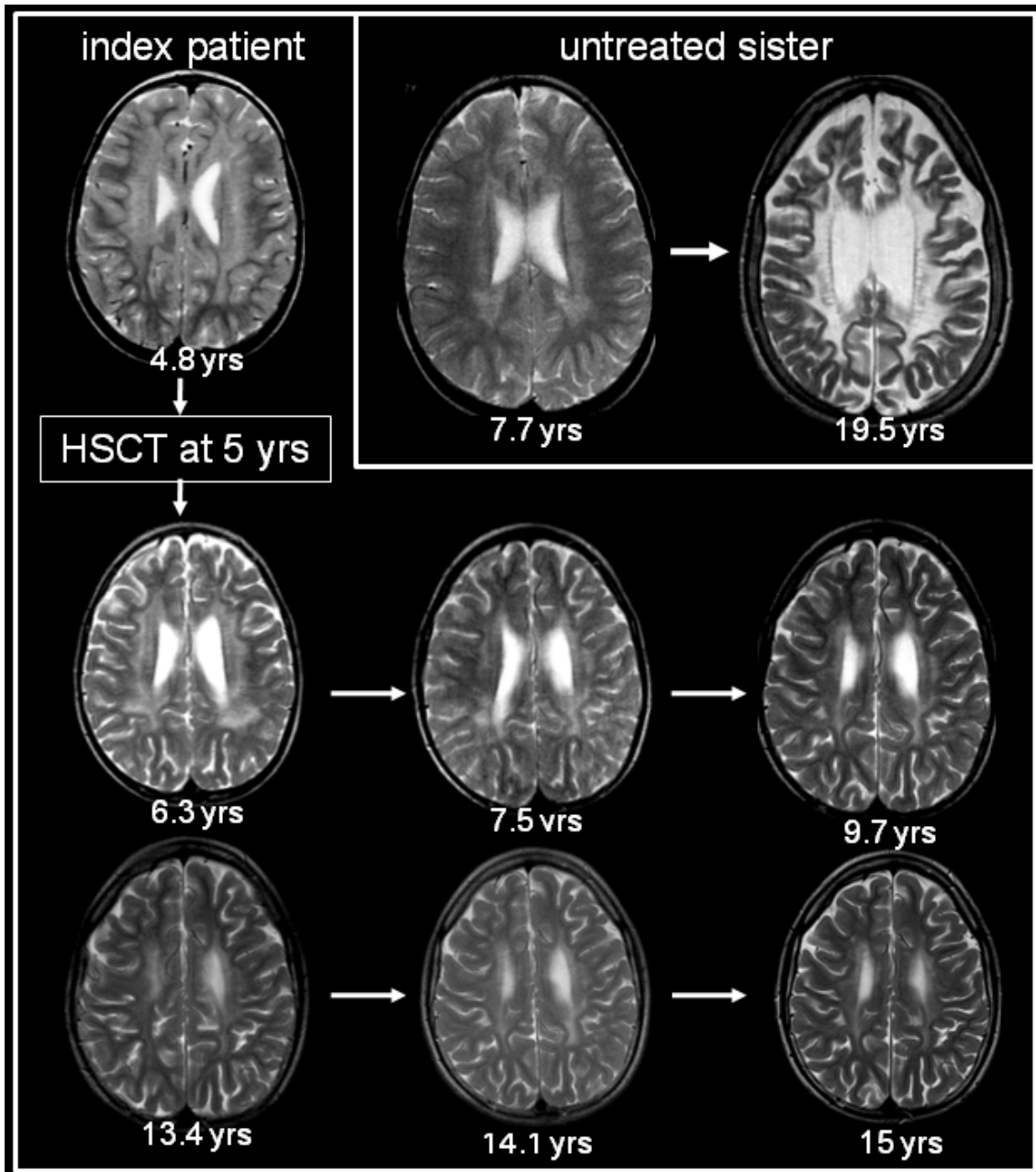


Abb. 3: Vergleich der MRT-Veränderungen zwischen transplantierten und nicht-transplantierten Geschwistern. Die Abbildung zeigt T2-gewichtete MRT-Bilder vor und nach der Stammzelltransplantation im Vergleich zur nicht-transplantierten Schwester (oben rechts). Im Vergleich zur MRT-Aufnahme vor der Transplantation sind die periventrikulären und zentralen hyperintensiven Veränderungen der weißen Substanz im Alter von 6,3 Jahren deutlicher ausgeprägt; im weiteren Verlauf gehen die Veränderungen dann aber zurück. Die nicht-transplantierte Schwester zeigt im Alter von 7,7 Jahren ähnliche periventrikuläre Signalveränderungen der weißen Substanz; im Alter von 19,5 Jahren ist das MRT-Bild allerdings von schweren und global vorkommenden Veränderungen der weißen Substanz und einer deutlichen Hirnatrophie geprägt (Krägeloh-Mann et al. 2013).

Auch im Vergleich mit der Kontrollkohorte juveniler Patienten ohne Stammzelltransplantation wurden bei der Indexpatientin 10 Jahre nach Krankheitsbeginn deutlich bessere MRT-Ergebnisse gefunden; mit ihren MRI-Score-Werten lag sie oberhalb der 90. Perzentile (Krägeloh-Mann et al. 2013). In dem relativ langen Zeitraum bis zur Besserung der MRT-Befunde sehen Krägeloh-Mann et al. darüber hinaus ein Indiz dafür, dass die Stammzelltransplantation 1-2 Jahre benötigt, um effektiv zu wirken (Krägeloh-Mann et al. 2013).

In einer anderen Studie wurden drei juvenile MLD-Patienten mit Stammzellen aus Nabelschnurblut therapiert und über einen Zeitraum von fünf Jahren regelmäßig nachuntersucht (Cable et al. 2011). Die beobachtbaren Verbesserungen der pathologischen Veränderungen in der weißen Substanz decken sich mit den Ergebnissen von Krägeloh-Mann et al.

Die vorgestellten Ergebnisse belegen, dass es durch die hämatopoetische Stammzelltransplantation zu einer Verlangsamung der Demyelinisierungsprozesse im Gehirn kommen kann. Dies gilt es anhand einer größeren Gruppe transplantierte Patienten zu überprüfen und weiter zu klären, welche Voraussetzungen für eine wirksame Stammzelltherapie von Vorteil sind.

1.4 Motivation und Zielsetzung der Arbeit

Unter Berücksichtigung des aktuellen Forschungsstandes gibt es aus meiner Sicht zwei wesentliche Aspekte, welche noch nicht ausreichend verstanden sind:

Erstens gehört die Demyelinisierung des ZNS zwar zu den Charakteristika der MLD, jedoch ist ihr pathologischer Wert noch nicht vollständig geklärt. Während sich die MRT-Veränderungen bei der spät-infantilen Form der MLD im weiteren Krankheitsverlauf parallel zur Symptomatik entwickeln, erkennt man bei der juvenilen Form bereits vor oder zeitgleich mit dem Beginn der ersten Symptome deutliche Auffälligkeiten (Groeschel et al. 2011). Auch der klinische Krankheitsverlauf der juvenilen MLD ist deutlich variabler. Während es teilweise sehr rasch progrediente Verläufe gibt, fallen manche Patienten mit juveniler MLD nur

mit milder Symptomatik auf und bleiben längere Zeit auf einem funktionell guten Niveau stabil (Kehrer et al. 2014). Es ist somit unklar, ob die im MRT sichtbare Demyelinisierung mit der Schwere der klinischen Symptomatik korreliert oder nur ein Zeichen der Lipidablagerung ist. Um den Stellenwert der Demyelinisierung bei juveniler MLD besser zu verstehen, werden in dieser Arbeit MRT-Aufnahmen von Patienten mit juveniler MLD ausgewertet und im Krankheitsverlauf betrachtet. Dabei soll untersucht werden, wie die Veränderungen im Gehirn mit den klinischen Symptomen der Patienten zusammenhängen.

Neben der Quantifizierung und Korrelation mit der MLD-Klinik von MRI-Score, Demyelination Load und Hirnvolumen soll untersucht werden, ob die Lokalisation der Demyelinisierung Einfluss auf die genaue Symptomatik hat. Wir haben die Hypothese, dass ein frontal geprägtes Bild der Demyelinisierung mit verminderten kognitiven Leistungen (z.B. niedrigen IQ-Werten) einhergeht. Weiterhin ist zu erwarten, dass bei Patienten mit starkem Verlust der weißen Substanz in der Zentralregion, also im Bereich der motorischen Rinde, eine schlechtere motorische Performance vorliegt. Diese Hypothesen beruhen auf der Annahme einer Struktur-Funktions-Beziehung der frontalen Regionen mit kognitiven Funktionen bzw. zentralen Regionen mit motorischen Funktionen.

Zusätzlich soll untersucht werden, inwiefern anhand eines frühen MRT-Bildes bei Diagnosestellung ein Verteilungsmuster der Demyelinisierung vorliegt, welches auf den weiteren Krankheitsverlauf schließen lässt. Ein solch räumliches Muster wäre von großem diagnostischem und prognostischem Wert.

Daher lautet die erste Frage, ob das Ausmaß der Gehirnveränderungen (quantifiziert anhand der MRT-Parameter MRI-Score, Demyelination Load und Hirnvolumen) und die spezifische Lokalisation der Demyelinisierungen mit dem klinischen Verlauf und der Symptomatik des Patienten korrelieren.

Zweitens wird über den Therapieeffekt der hämatopoetischen Stammzelltransplantation zum Teil kontrovers diskutiert. Das liegt u.a. auch an dem häufig fehlenden Vergleich der transplantierten Patienten mit den natürlichen Verläufen der MLD. Aus diesem Grund soll in einem zweiten Teil der Arbeit untersucht werden, ob im MRT anhand der Messparameter MRI-Score, Demyelination

Load und Hirnvolumen ein Unterschied zwischen den transplantierten und nicht-transplantierten Patienten deutlich wird.

Ganz entscheidend sind dabei die Fragen, ab wann ein Therapieeffekt im MRT zu beobachten ist und wie sich Patienten mit Therapieerfolg und Therapiemisserfolg vor der Transplantation unterscheiden. Es wäre von sehr großem Wert, wenn mittels MRT-Diagnostik eine Prognose für den Krankheitsverlauf und besonders für das Therapieansprechen getroffen werden könnte. Dies wäre für Patient, Angehörige und Behandlungsteam eine Bereicherung. Das Ziel ist daher, zusätzlich zum MRI-Score (Krägeloh-Mann et al. 2013) auch volumetrische Daten (Demyelination Load) zur Therapieevaluation heranzuziehen.

Somit ergeben sich folgende konkrete Fragestellungen:

1. Korrelieren die MRT-Parameter (MRI-Score, Demyelination Load und Hirnvolumen) mit den klinischen Parametern der Betroffenen?
 - a. Kognitiv: IQ und Aspekte des Sprachverlusts
 - b. Motorisch: GMFC-MLD-Score
2. Korrelation zwischen Lokalisation der Demyelinisierung und Symptomatik
 - a. Mit welchen Gehirnregionen korrelieren motorische und kognitive Symptome besonders gut?
3. Kann durch Bestimmung des Demyelination Loads eine Prognose über den natürlichen Krankheitsverlauf getroffen werden?
 - a. MRT-Parameter zum Zeitpunkt der Diagnosestellung vs. Schwere der späteren Krankheitsprogression
 - b. Gibt es ein räumliches Muster der Demyelinisierung bei Diagnosestellung, das mit dem Schweregrad des Krankheitsverlaufs korreliert?

4. MRT-Parameter im Krankheitsverlauf mit und ohne Stammzelltransplantation
 - a. Gibt es einen modifizierenden Effekt der Stammzelltransplantation (und wenn ja, ab wann)?
5. Kann durch Bestimmung des Demyelination Loads eine Prognose über den Therapieerfolg getroffen werden?
 - a. MRT-Parameter vor Stammzelltransplantation vs. Outcome nach Stammzelltransplantation

2 Patienten, Material und Methoden

2.1 Patienten

Eine Grundlage für das Patientengut bildete das *Deutsche Leukodystrophie Netzwerk* LEUKONET. Dabei handelt es sich um ein seit 2002 bestehendes Forschungsnetzwerk, welches vom Bundesministerium für Bildung und Forschung gefördert wird. Das Ziel des Netzwerkes ist es, deutschlandweit Daten zu den verschiedenen Leukodystrophien zu sammeln und für Forschungszwecke zugänglich zu machen. Um eine umfassende Datenbank mit klinischen, genetischen, diagnostischen und weiteren Daten zu pflegen, werden diese Parameter in standardisierten Fragebögen von Patienten, Familien und Behandlungsteams erfragt, ergänzend zu verfügbaren MRT und klinischen Daten. In diesem Rahmen sind bereits einige Publikationen entstanden (Groeschel et al. 2011, Kehrer et al. 2011b, Groeschel et al. 2012, Krägeloh-Mann et al. 2013, Kehrer et al. 2014).

Seit ungefähr 20 Jahren wird die Stammzelltransplantation an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen als Therapieoption der MLD erforscht. Die seither gesammelten Daten wurden bereits teilweise aufgearbeitet und publiziert (Krägeloh-Mann et al. 2013). Weitere klinische Daten wurden aus alten Arztbriefen und archivierten Untersuchungsergebnissen zusammengetragen. Somit diente die Datenbank der Universitätsklinik für Kinder und Jugendmedizin, besonders für die Gruppe der stammzelltransplantierten Patienten, als zusätzliche Informationsgrundlage.

Nach Moser und Lees erfolgte die Einteilung der Patienten zur juvenilen Form bei Beginn der Symptomatik zwischen dem 30. Lebensmonat und 16 Jahren (Moser und Lees 1965). Die Diagnose MLD wurde bei den Patienten anhand eines ASA-Mangels im Blut und typischen Veränderungen in der MRT-Bildgebung im Zusammenhang mit klinischen Symptomen gestellt. Zusätzlich wurde die Sulfatidausscheidung im Urin untersucht (Kehrer et al. 2014). Bei 31 von 46 Patienten wurde die Diagnose durch molekulargenetische Untersuchung des ARSA-Gens unterstützt. Einige Patienten wurden auch präsymptomatisch

diagnostiziert. Dies erfolgte in der Regel aufgrund eines früher erkrankten Geschwisterkindes und anschließender Gendiagnostik.

2.1.1 Ein- und Ausschlusskriterien

In dieser Arbeit wurden nur MLD-Patienten berücksichtigt, die an der juvenilen Form erkrankt sind. Dabei wurden deutschlandweit alle Patienten eingeschlossen, die keine kausale Therapieintervention (HSZT, ERT, Gentherapie) erhielten. Patienten mit solch einer Therapie wurden nur bis zum Start der Intervention eingeschlossen. Zusätzlich wurden alle juvenilen Patienten aufgenommen, die sich der Transplantation hämatopoetischer Stammzellen an der Universitätsklinik Tübingen unterzogen haben. Diese beiden Patientengruppen werden fortan als „nicht-transplantierte“ und „transplantierte“ Patienten bezeichnet.

Ausgeschlossen wurden alle Patienten, zu denen es keine axiale T2- oder FLAIR-Aufnahme gab, die den subjektiven Ansprüchen an die Bildqualität genügte. Patienten, die bereits mit einer Enzym- oder Gentherapie behandelt oder an einem anderen Zentrum als Tübingen stammzelltransplantiert wurden, sind ebenfalls nicht aufgenommen worden. Aufgrund dieser Kriterien wurden 8 Patienten vorab ausgeschlossen.

Insgesamt wurden 46 Patienten in diese Arbeit aufgenommen. Für eine Auswertung der Daten liegt durch LEUKONET das schriftliche Einverständnis der Eltern vor. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universität Tübingen genehmigt (Nr. 401/2005 und Nr. 700/2016B02).

Im Rahmen des LEUKONETs wurden die Patienten aus ganz Deutschland rekrutiert. Die Altersangaben beziehen sich in diesem Kapitel auf das Alter zum Zeitpunkt der ersten MRT-Aufnahme. Der Mittelwert des Alters der 46 Patienten beträgt 118 Monate mit einer Standardabweichung von 81,1 Monaten (Min.: 11 Monate; Max.: 426 Monate). Die Geschlechterverteilung zeigt 24 weibliche (52,2%) und 22 männliche (47,8%) Patienten. 11 Patienten wurden im Rahmen dieser Studie als „transplantiert“ und 35 als „nicht-transplantiert“ kategorisiert (s. auch Strölin et al. 2017).

2.1.2 Transplantierte Patienten

In der Gruppe der transplantierten Patienten sind alle Personen inbegriffen, die sich einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen unterzogen haben und von denen es Nachuntersuchungen gibt.

In dieser Gruppe befinden sich 11 Patienten. Das durchschnittliche Alter liegt bei 126 Monaten mit einer Standardabweichung von 51,4 Monaten (Min.: 60 Monate; Max.: 211 Monate). Die Gruppe enthält 7 weibliche (63,6%) und 4 männliche (36,4%) Patienten.

2.1.3 Nicht-transplantierte Patienten

Zu der nicht-transplantierten Kohorte wurden alle Patienten zugeteilt, die keine Therapie im Sinne einer ERT, Stammzelltransplantation oder Gentherapie erhalten haben. Patienten, welche eine solche therapeutische Intervention erhielten, sind bis zum Beginn der Therapie ebenfalls in diese Gruppe eingeschlossen.

Diese Kriterien erfüllen 35 Patienten. Das mittlere Alter in dieser Gruppe beträgt 116 Monate mit einer Standardabweichung von 88,9 Monaten (Min.: 11 Monate; Max.: 426 Monate). In der Gruppe der nicht-transplantierten Patienten befinden sich 17 weibliche (48,6%) und 18 männliche (51,4%) Personen.

2.2 MRT-Daten

Für die Sammlung der MRT-Daten der Transplantierten-Gruppe konnte zum Großteil auf bereits vorhandene Daten zurückgegriffen werden. Teilweise wurden Erst- und Verlaufsaufnahmen im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt. Die Messungen erfolgten dabei an 1,5T-Scannern der Firma Siemens im Universitätsklinikum Tübingen.

Die MRT-Daten der nicht-transplantierten Gruppe stammen, ausgenommen der in Tübingen betreuten Patienten, von unterschiedlichen Geräten.

Die Demyelinisierung kann mithilfe unterschiedlicher MRT-Modalitäten quantifiziert werden. T2-gewichtete Sequenzen stellen demyelinisierte weiße Substanz als Hyperintensitäten dar, welche im Vergleich zu T1-gewichteten Aufnahmen einen besseren Kontrast zu nicht betroffenen Arealen aufweisen (Groeschel et al. 2012). Hochaufgelöste T1-3D-Aufnahmen zeichnen sich im Gegenzug durch einen besseren Kontrast zwischen grauer und weißer Substanz, dem Kontrast zwischen Liquor und demyelinisierter weißer Substanz sowie einer höheren räumlichen Auflösung aus. Daher gilt die Kombination eines axialen T2-Bildes mit einer hochaufgelösten T1-3D-Aufnahme als qualitativ hochwertig (Groeschel et al. 2012). Ausgeschlossen wurden MRT-Datensätze von Patienten, die kein axiales T2- oder FLAIR-Bild beinhalten. Ebenso nicht aufgenommen wurden MRT-Bilder, die aufgrund von Bildartefakten nicht auswertbar waren.

Insgesamt wurden 137 MRT-Aufnahmen ausgewertet:

Tab. 2: Verteilung der MRT-Daten. Die Tabelle gibt die Verteilung der MRT-Daten auf die beiden Patientengruppen an.

Patientengruppe	Anzahl d. Patienten	Anzahl d. MRT-Aufnahmen
transplantiert	11	68
nicht-transplantiert	35	69
Gesamtanzahl	46	137

Bei der Auswertung wurde ausschließlich mit axialen Schnittbildern gearbeitet. Zur Quantifizierung der Hirnmorphologie wurde, wenn möglich, die Kombination der Sequenzen T2 (mit einer durchschnittlichen Flächenauflösung von $0,56 \times 0,56 \text{ mm}^2 \pm 0,19 / 0,19 \text{ mm}$ und einer durchschnittlichen Schichtdicke von $0,47 \text{ mm} \pm 1,3 \text{ mm}$) mit einem hochaufgelösten T1-3D-Bild (durchschnittliche Auflösung $0,97 \times 0,76 \times 0,84 \text{ mm}^3 \pm 0,31 / 0,24 / 0,22 \text{ mm}^3$) gewählt (s. auch Strölin et al. 2017). Die zur Auswertung verwendete Software erzielt mit dieser Modalität die höchste Sensitivität bei der Segmentierung der Datensätze. Als Datensatz wird die Kombination der vorhandenen Sequenzen eines Patienten zu einem bestimmten Untersuchungszeitpunkt bezeichnet.

Vorabprüfungen haben gezeigt, dass die zweitsensitivste Kombination aus den Gewichtungen T2 + FLAIR besteht. Im Prinzip gleich gute Ergebnisse liefert die Modalität T2 + T1. Wenn keine zweite Sequenz im Datensatz vorhanden war, wurde die T2-Aufnahme alleine verwendet.

Die verwendeten MRT-Datensätze setzen sich wie folgt aus den Sequenzen zusammen:

Tab. 3: Verteilung der MRT-Datensätze. Die Tabelle gibt die Zusammensetzung der MRT-Datensätze aus den verschiedenen verwendeten MRT-Sequenzen wieder.

Patientenanzahl		Verfügbare Sequenzkombinationen					Gesamtanzahl MRTs
		T2 + T1-3D	T2 + FLAIR	T2 + T1	T2	FLAIR + T1-3D	
transplantiert	11	43	17	4	3	1	68
nicht-transplantiert	35	36	16	10	7	0	69
Gesamtanzahl	46	79	33	14	10	1	137

2.3 Klinische Daten

Zur Überprüfung der Korrelation der Hirnveränderungen mit der klinischen Symptomatik der MLD-Patienten, wurden drei Parameter (IQ, Aspekte des Sprachverlusts, GMFC-MLD-Score) ausgewählt. Diese spiegeln die klassische Symptomatik der MLD in den Bereichen Kognition und Motorik wieder (Kehrer et al. 2011b, Kehrer et al. 2014). Dabei konnte zum Teil auf LEUKONET-Daten zurückgegriffen werden.

Die Datenerhebung zu den kognitiven Symptomen der MLD-Patienten erfolgte in großem Ausmaß durch Kehrer et al. im Rahmen einer LEUKONET-Studie (Kehrer et al. 2014). Als Informationsgrundlage wurden Krankenhausberichte, standardisierte Fragebögen sowie Gespräche mit den Familien und dem Behandlungsteam der Patienten ausgewertet (Kehrer et al. 2014). Zur Vervoll-

ständigung dieser Daten wurden Arztbriefe unserer Klinik und die Berichte des Sozialpädiatrischen Zentrums Tübingen als Datenquelle verwendet.

Kehrer et al. werteten zudem zwischen 2006 und 2008 in einer weiteren LEUKONET-Studie die Entwicklung des grobmotorischen Krankheitsbildes anhand von 59 Patienten der spät-infantilen und juvenilen MLD aus (Kehrer et al. 2011b). Die Daten wurden dabei pro- und retrospektiv erhoben. Als Datenquelle dienten Krankenhausakten, standardisierte Fragebögen für die Familien, Telefonbefragungen, Videodokumentationen und selbst durchgeführte Untersuchungen an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen (Kehrer et al. 2011b).

Nicht dokumentierte Angaben zu grobmotorischen Symptomen wurden aus Arztbriefen und archivierten Untersuchungsergebnissen aus der Datenbank der Universitätsklinik Tübingen ergänzt.

2.4 Klinische Parameter

2.4.1 IQ-Test

Zur Überwachung der kognitiven Entwicklung der Patienten wurden die Ergebnisse testpsychologischer Untersuchungen herangezogen. Als Parameter diente dabei, unabhängig vom angewendeten Testverfahren, der (Full Scale) Intelligence Quotient (IQ). Viele Testergebnisse sind ohne Vermerk auf das angewendete Testverfahren angegeben. Dokumentiert wurde am häufigsten die Verwendung des HAWIK IV (Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Kinder IV) (n=26), gefolgt vom WIE (Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene) (n=15) und dem K-ABC (Kaufman Assessment Battery for Children) (n=4). Seltener wurden folgende Tests durchgeführt: HAWIK III, HAWIK-R, SON-R, CFT20-R, WPSSI III (s. auch Strölin et al. 2017).

2.4.2 Aspekte des Sprachverlusts

„Aspekte des Sprachverlusts“ wurde als weiterer Parameter für den kognitiven Verlauf der Patienten ausgewählt. Kehrer et al. unterteilten die Verschlechterung der Sprache bei MLD Patienten in die Kategorien „Erste Sprachverschlechterung“, „Verlust von kompletten Sätzen“, „Verlust von zwei-Wort-Sätzen“, „Verlust von ein-Wort-Sätzen“ und „kompletter Verlust der Ausdruckssprache“ ein (Kehrer et al. 2014). In diese Arbeit wurde die Einteilung nach den Zeitpunkten der ersten Sprachverschlechterungen / Sprachauffälligkeiten und dem kompletten Sprachverlust übernommen. Als Sprachauffälligkeiten gelten dabei zum Beispiel die nicht altersgerechte, stolpernde oder verwaschene Sprache und das Verschlucken von Wörtern.

2.4.3 GMFC-MLD-Score

Eines der Hauptsymptome der juvenilen MLD ist die Verschlechterung des Gangbildes und der allgemeine Abbau der grobmotorischen Fähigkeiten. Um eine standardisierte Beschreibung des grobmotorischen Verlaufs zu ermöglichen, wurde 2011 der GMFC-MLD-Score (Gross Motor Function Classification in MLD) eingeführt (Kehrer et al. 2011a). Der Score basiert auf einer Klassifikation zur Bewertung der Infantilen Zerebralparese (Palisano et al. 1997) und ermöglicht die Beurteilung der grobmotorischen Funktion speziell für MLD – Patienten.

Kehrer et al. zeigten, dass der GMFC-MLD-Score mit einem Cohens Kappa-Koeffizient von 0,90 sehr zuverlässige und vergleichbare Ergebnisse liefert. Daher eignet er sich gut für die Beschreibung des natürlichen Krankheitsverlaufes und für die Bewertung des Therapieansprechens der Stammzelltransplantation (Kehrer et al. 2011a).

GMFC-MLD Level	Grobmotorische Fähigkeit
0	Altersentsprechendes, freies Gehen ohne Unterstützung
1	Freies Gehen mit Auffälligkeiten, z.B. Gangunsicherheit
2	Gehen nur mit Unterstützung. Freies Gehen nicht möglich (weniger als 5 Schritte)
3	Freies Sitzen und Fortbewegung, z.B. Krabbeln. Gehen auch mit Unterstützung nicht möglich
4	a) Freies Sitzen, aber keine Fortbewegung oder
	b) Kein freies Sitzen, aber Fortbewegung, z.B. Krabbeln
5	Keine Fortbewegung und kein Sitzen ohne Unterstützung, Kopfkontrolle erhalten
6	Verlust jeder Fortbewegung, keine Kopf- und Rumpfkontrolle mehr erhalten

Abb. 4: GMFC-MLD-Score. Die Abbildung enthält die 7 Level zur Einteilung des grobmotorischen Funktionsverlustes und ist der Arbeit von Kehrer et al. nachempfunden (Kehrer et al. 2011a).

2.5 MRT Parameter

Um die Veränderungen des Hirnvolumens und das Charakteristikum der MLD, die Demyelinisierung der weißen Substanz, zu quantifizieren und zu bewerten, wurden unterschiedliche Messparameter angewendet.

2.5.1 MRI-Severity-Score

Der MRI-Severity-Score von Eichler et al. dient seit 2009 zur Quantifizierung der MLD-bedingten Hirnveränderungen im MRT (Eichler et al. 2009). In T2- und FLAIR-gewichteten MRT-Aufnahmen werden die Demyelinisierungen nach Hirnregionen getrennt beurteilt. Darüber hinaus wird die globale Hirnatrophie mitbewertet. Dabei werden leichte Hyperintensitäten mit 1 Punkt und dichte Hyperintensitäten mit 2 Punkten bewertet. 0 Punkte stehen für eine regelrechte Morphologie.

Der MRI-Score kann zwischen 0 und 34 Punkten liegen; wobei weiter nach *milder* (Score: 1-6), *moderater* (Score: 7-15) und *schwerwiegender* (Score: 16-34) Krankheit eingeteilt wird. Der Interrater-Reliabilitäts-Koeffizient wurde mit 0,988 als außerordentlich hoch beschrieben (Eichler et al. 2009).

Gehirnareal	Score		
Frontale WM			
periventrikulär	0	1	2
zentral	0	1	2
U-Fasern	0	1	2
Parieto-okzipitale WM			
Periventrikulär	0	1	2
zentral	0	1	2
U-Fasern	0	1	2
Temporale WM			
Periventrikulär	0	1	2
Zentral	0	1	2
U-Fasern	0	1	2
Corpus callosum			
Genu	0	1	2
Splenium	0	1	2
Projektionsfasern			
Capsula int., posteriorer Schenkel	0	1	2
Capsula int., anteriorer Schenkel	0	1	2
Pons (Mittellinie)	0	1	2
Cerebrale Atrophie	0	1	2
Thalamus	0	1	
Basalganglien	0	1	
Kleinhirn			
WM	0	1	
Atrophie	0	1	
Gesamtwert maximal 34			

Abb. 5: MRI-Severity-Score nach Eichler et al. Die Abbildung gibt das Scoring-System zur Beurteilung der MRT-Veränderungen im Gehirn wieder. Der Scorepunkt „0“ entspricht der altersgerechten Myelinisierung der WM, „1“ einer leichten und „2“ einer starken Signalaufhellung. Die Abbildung ist der Arbeit von Eichler et al. nachempfunden (Eichler et al. 2009).

Es konnte bereits gezeigt werden, dass der MRI-Score positiv mit dem Alter der Patienten, der Krankheitsdauer und dem GMFC-MLD-Score korreliert (Groeschel et al. 2011). 2015 publizierten Tillema et al. eine negative Korrelation zwischen dem Intelligenzquotienten und dem MRI-Score der MLD-Patienten (Tillema et al. 2015). Aufgrund seiner guten Vergleichbarkeit und Reliabilität wurde der MRI-Severity-Score auch in dieser Arbeit zur Verlaufsbeschreibung der Hirnveränderungen herangezogen. Die hier verwendeten MRI-Scores wurden im Rahmen der LEUKONET-Datenbank von Untersuchern mit Erfahrung in der Diagnostik von Leukodystrophien anhand des MRI-Severity-Scores nach Eichler vergeben (Eichler et al. 2009). Dazu wurden T2-gewichtete Sequenzen, unter Verblindung der Untersucher hinsichtlich der Patienteninformationen, visuell und unabhängig voneinander bewertet. Die Ergebnisse wurden bereits teilweise publiziert (Groeschel et al. 2011).

2.5.2 Demyelination Load

Als weiteres Messinstrument der Demyelinisierung in den Gehirnen der MLD-Patienten wurde der Demyelination Load ausgewählt. Es wurde bereits beschrieben, dass er sich für den Vergleich der quantitativen Hirnveränderungen im Krankheitsverlauf und zu der Überwachung des Therapieansprechens der Stammzelltransplantation eignet (Krägeloh-Mann et al. 2013). Auch seine Korrelation zu motorischen Symptomen bei spät-infantilen Patienten (Groeschel et al. 2012) und kognitiven Symptomen in einer gemischten Patientenkohorte (Tillema et al. 2015) der MLD wurde nachgewiesen.

Um den Demyelination Load eines Datensatzes zu bestimmen, muss dieser zunächst „segmentiert“ werden. Das bedeutet, er wird in die verschiedenen Gewebstypen aufgrund deren unterschiedlicher Signalintensität aufgeteilt (zum Beispiel pathologische und normale weiße Substanz, Liquor etc). Die Bearbeitung eines Datensatzes konnte zeiteffizienter gestaltet werden, indem ein halb-automatischer Algorithmus zur Segmentierung entwickelt wurde (Clas et al. 2012). Der Algorithmus steht in der MATLAB-Toolbox „Clusterize“ zum kostenlosen Download zur Verfügung (Universitätsklinik für Kinder- und

Jugendmedizin 2015). Clusterize ermöglicht zudem auch eine manuelle Segmentierung der Datensätze. Zur Implementierung des Algorithmus wird die Software MATLAB von *MathWorks* benötigt (The MathWorks 2015).

Der Algorithmus durchsucht die axialen Schichten der T2 – Bilder nach Regionen von mehreren Voxeln ähnlicher Intensität. Durch die Definition von Intensitätsgrenzwerten können so Bereiche zusammenhängender hyperintensiver Voxeln identifiziert werden. Clusterize gibt diese Areale als grafisch hervorgehobene Cluster wieder. Der Anwender kann die Cluster daraufhin bearbeiten und so eine schnellere Segmentierung erreichen. Mit Clusterize ist aber auch die manuelle Segmentation möglich.

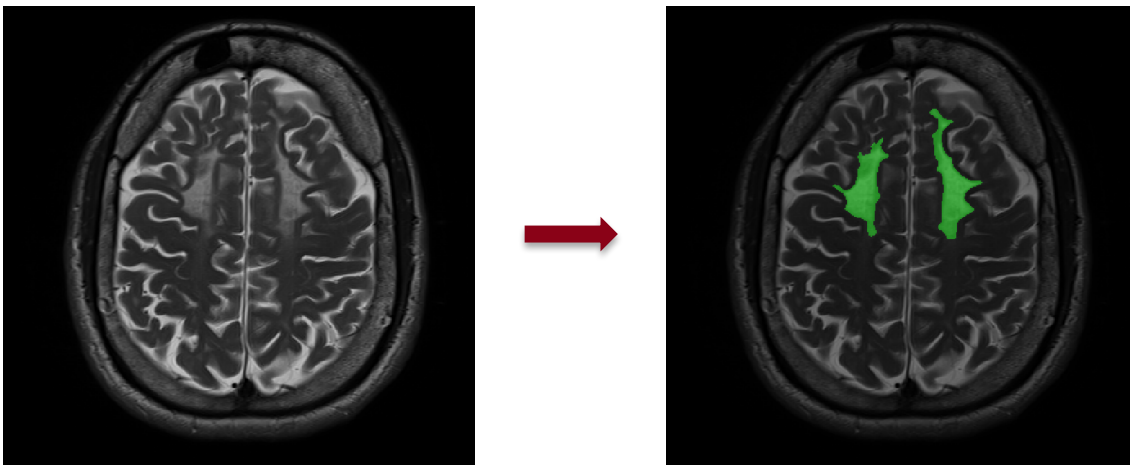


Abb. 6: Schematische Zusammenfassung der Bestimmung des Demyelination Loads. Die Abbildung zeigt ein axiales T2-gewichtetes MRT-Bild vor und nach der Quantifizierung des Demyelination Loads.

Sind zusätzlich zu dem T2–Bild, T1- oder FLAIR-gewichtete Sequenzen im Datensatz enthalten, können Liquorräume aufgrund der unterschiedlichen Gewebekontraste dieser Sequenzen effektiv aus den Clustern herausgerechnet werden. Die räumliche Koregistrierung der Bilder (s.u.) erfolgt dabei mit der Software SPM8 (The Wellcome Trust Centre for Neuroimaging 2015). SPM (Statistical Parametric Mapping) wird in MATLAB integriert und dient zur Analyse von MRT-Daten.

Da die Demyelinisierung des ZNS ein fortschreitender Prozess ist, können die Hyperintensitäten nicht immer eindeutig vom gesunden Gewebe abgegrenzt werden. Diese Problematik wird dadurch erschwert, dass mit abnehmender

räumlicher Auflösung der MRT-Aufnahmen die Voxelgröße zunimmt. Dann kommt es vor, dass ein Voxel die Information mehrerer Gewebetypen mit unterschiedlichen Intensitäten enthält. Da ein Voxel aber nur eine Intensität wiedergibt, kann er die Information der unterschiedlichen Gewebe nicht mehr genau darstellen. Dieses als „Partialvolumeneffekt“ (Gonzales Ballester et al. 2002) bezeichnete Phänomen erschwert die Beurteilung der Hirnveränderungen. Um eine möglichst genaue Quantifizierung des Demyelination Loads zu gewährleisten, wurden die Bilder nach einer Trainingsphase in Konsensus mit einem weiteren erfahrenen Untersucher (Dr. S.G.) bearbeitet.

Einige Datensätze sind vor vielen Jahren aufgenommen worden und entsprechen infolge der inzwischen verbesserten MRT-Hardware nicht dem heutigen qualitativen Stand. Zudem gelten aufgrund der eingeschränkten Patientencompliance mit entsprechenden (Bewegungs-)Artefakten erschwerte Bedingungen bei der MRT-Untersuchung von Kindern mit MLD. Aus diesen Umständen ergibt sich eine heterogene Zusammensetzung der MRT-Daten in Bezug auf Sequenzen, Auflösungen und Qualität. Da mit dem halbautomatischen Algorithmus dabei Ungenauigkeiten entstehen können, wurde in dieser Arbeit zum Teil auf die zeitaufwendigere manuelle Segmentation zurückgegriffen. Es konnte bereits gezeigt werden, dass die manuelle und die halbautomatische Segmentation mit einem Dice similarity coefficient (DSC) von $0,7861 \pm 0,00697$ eine hohe Übereinstimmung aufweisen (Clas et al. 2012). Die manuelle Segmentierung ist zudem weiterhin der Goldstandard in der Volumetrie (Rorden und Karnath 2004, Seghier et al. 2008)

2.5.3 Hirnvolumen

Die Bestimmung des Hirnvolumens (HV) ist aus zwei Gründen von Bedeutung: Zum einen beschreiben Groeschel et al. die Zeichen der Hirnatrophie, v.a. durch Abnahme der weißen Substanz und Zunahme der inneren und äußeren Liquorräume, als charakteristisches Spätstadium der juvenilen MLD (Groeschel et al. 2011). Somit wird bei stark fortgeschrittener Erkrankung ein niedrigeres Hirnvolumen erwartet als bei bisher nur mild betroffenen Patienten.

Zum anderen kann der Demyelination Load an Aussagekraft gewinnen, wenn er in Bezug auf das gesamte Hirnvolumen betrachtet wird (s. auch Strölin et al. 2017). Die Bildung des Quotienten aus Demyelination Load und Hirnvolumen hat sich zur Verlaufskontrolle bei MLD bereits als sinnvoll erwiesen (Krägeloh-Mann et al. 2013).

Die Bestimmung des Hirnvolumens erfolgte mit dem SPM8-Tool „New Segment“. SPM ist in der Lage zwei MRT-Aufnahmen unterschiedlicher Gewichtung eines Patienten anatomisch bzw. räumlich aufeinander abzustimmen. Dieser Vorgang wird als Koregistrierung bezeichnet (Wohlschläger und Habel 2006). Sinn und Zweck einer Koregistrierung liegt darin, MRT-Sequenzen geringer Auflösung mit einem hochaufgelösten MRT-Bild zu kombinieren, um eine genauere anatomische Lokalisation der Hirnstrukturen zu ermöglichen. Die besten Ergebnisse werden dabei unter der Verwendung einer hochaufgelösten T1-3D-Aufnahme erzielt. Um die höchste räumliche Kongruenz der beiden Aufnahmen zu erreichen, werden die einzelnen Hirnbereiche durch lineare (z.B. Rotations-) Anpassungen aufeinander abgestimmt (Wohlschläger und Habel 2006).

Um die Vergleichbarkeit der individuellen Gehirne von Patienten zu gewährleisten, muss eine räumliche Normalisierung auf ein Referenzgehirn durchgeführt werden. Dazu definierte das Montreal Neurological Institute (MNI) einen Referenzraum (MNI-Raum) (Wohlschläger und Habel 2006). Dieser Standardraum konnte durch die Transformation von über 300 MRT-Aufnahmen gesunder Probanden in einen stereotaktischen Raum definiert werden (Evans et al. 1993).

In diesem Standardraum befinden sich Gewebetemplates oder Gewebemasken, die für jedes Voxel die statistische Gewebszugehörigkeit definieren und die spezifisch für WM, GM und CSF sind. Die Templates werden mit den MRT-Aufnahmen koregistriert, um die verschiedenen Hirnbestandteile zu identifizieren. Durch die Zuordnung einer Gewebeklasse zu jedem Voxel des Datensatzes findet eine Segmentierung statt. Dieses Verfahren nennt sich „unified segmentation“ (Ashburner und Friston 2005). Durch dieses Vorgehen wird sichergestellt, dass die individuell verschiedenen Gehirne der Patienten vergleichbare Ergebnisse erhalten.

Das Tool „New Segment“ ist in der Lage, koregistrierte T1- und T2 - Bilder für die Normalisierung zu berücksichtigen. Die Segmentierung anhand der Templates liefert mit hochauflösten T1-3D – Aufnahmen deutlich sensitivere Ergebnisse als mit anderen Sequenzen.

Die von SPM8 ermittelten Hirnbereiche können anschließend mit der Toolbox Clusterize in den einzelnen axialen Schichten bearbeitet und angepasst werden. Letztendlich wird das Volumen der markierten Areale analog zum Demyelination Load berechnet.

2.6 Statistische Auswertung

Im Folgenden werden die Methoden aufgelistet, die zur Überprüfung der Hypothesen angewandt wurden. Die statistische Auswertung erfolgte dabei mit der Software *IBM SPSS Statistics* Version 22.0.0.0 und MATLAB. Das Signifikanzniveau wurde bei $p \leq 0,05$ festgelegt. Aufgrund der gerichteten Hypothesen wurde, falls nicht anders erwähnt, die einseitige Signifikanz bestimmt.

2.6.1 Korrelation der MRT-Parameter mit klinischen Parametern

Um den Zusammenhang zwischen Hirnveränderung und Symptomatik der Erkrankten zu untersuchen, wurden die ausgewählten klinischen Parameter mit dem MRI-Severity-Score, dem Demyelination Load, dem Hirnvolumen und dem Quotienten aus Demyelination Load und Hirnvolumen korreliert. Um die Struktur-Funktion-Beziehung in jedem Bild mit der dazugehörigen Symptomatik zu berücksichtigen, wurden zunächst alle gemessenen Datensätze ausgewertet. Da einzelne Kinder mehrere Untersuchungszeitpunkte aufweisen als andere, besteht die Gefahr der Bias bzw. Überrepräsentation der Symptomatik dieser Patienten. Daher wurde in einem zweiten Schritt im Sinne einer Querschnittsanalyse jeweils nur die letzte Aufnahme betrachtet. Mit diesem Vorgehen soll eine Überrepräsentation einzelner Verläufe vermieden werden. Bei den Korrelationsanalysen wurde nicht zwischen transplantierten und nicht-transplantierten Patienten unterschieden.

Zur Überprüfung der Einflussnahme der Hirnveränderungen auf die kognitiven Symptome, wurde zunächst der IQ zusammen mit den zeitgleich gemessenen MRT-Parametern in einem Streudiagramm grafisch dargestellt. Die Korrelation der beiden metrischen Variablen wurde mit dem Pearson-Korrelationskoeffizient quantifiziert (s. auch Strölin et al. 2017).

Um neben den exakt gemessenen IQ-Ergebnissen noch mehr Daten einschließen zu können, wurden die Patienten anhand des letzten Beobachtungsergebnisses in die Gruppen „normale Kognition“ und „kognitive Defizite“ eingeteilt. Beim Intelligenzquotienten wird eine Abweichung von bis zu einer Standardabweichung (± 15 IQ-Punkte) vom IQ-Durchschnittswert 100 als normal angesehen. Daher wurden alle Patienten mit Werten unter 85 IQ-Punkten in die Gruppe mit kognitiven Defiziten eingeteilt und Patienten mit Werten darüber entsprechend in die andere Gruppe. Wenn keine testpsychologischen Untersuchungsdaten vorhanden waren, erfolgte die Zuteilung zusätzlich anhand des jeweils letzten dokumentierten kognitiven Zustands der Patienten. Beschrieben Ärzte und Eltern die Kinder als kognitiv unauffällig, wurde sie der Gruppe mit normaler Kognition zugeordnet. Wurde die kognitive Funktion als klar auffällig beschrieben (z.B. Betreuung in einer Schule für Kinder mit geistiger Behinderung) erfolgte die Zuteilung in die Gruppe mit kognitiven Defiziten. Anschließend konnte so das Verhältnis zu den MRT-Parametern mithilfe von Boxplots dargestellt werden. Mit dem t-Test wurden daraufhin die Mittelwerte verglichen.

Zur Untersuchung des Einflusses der Hirnmorphologie auf den zweiten kognitiven Parameter, die Aspekte des Sprachverlusts, wurden die Patienten in die Gruppen „keine Sprachsymptome“, „Sprachsymptome“ und „Sprachverlust“ eingeteilt. Die Zuteilung erfolgte anhand der Zeitpunkte der ersten Sprachauffälligkeiten bzw. dem kompletten Sprachverlust. Die statistische Überprüfung des Unterschieds der Gruppen gelang mit dem t-Test.

Zur grafischen Abbildung der Wechselbeziehung zwischen den MRT-Parametern und der motorischen Symptomatik (GMFC-MLD Stadien) wurden diese ebenfalls anhand eines Streudiagrammes veranschaulicht. Da es sich bei den GMFC-MLD Stadien um nichtparametrische Größen handelt, wurde als

statistischer Test Spearmans Rangkorrelationskoeffizient verwendet (s. auch Strölin et al. 2017).

2.6.2 Prognostische Aussagekraft der MRT-Parameter für den natürlichen Krankheitsverlauf

Um die prognostische Aussagekraft besonders des Demyelination Loads aber auch der anderen MRT-Parameter zum Zeitpunkt der Diagnosestellung auf den weiteren natürlichen Verlauf der nicht-transplantierten Patienten zu untersuchen, wurden diese anhand der Schwere ihres Krankheitsprogresses retrospektiv in Gruppen klassifiziert (s. auch Strölin et al. 2017).

Die Einteilung der Gruppen erfolgte anhand der Zeit, welche vom Zeitpunkt des Auftretens erster motorischer Symptome (GMFC-MLD-Score 1) bis zum Verlust des selbstständigen Gehens (GMFC-MLD-Score 2) verging. Kehrer et al. publizierten für diesen Zeitraum einen Median von 27 Monaten für juvenile MLD-Patienten (Kehrer et al. 2011b). Ebenso wurden Patienten berücksichtigt, die noch keine motorischen Symptome aufwiesen (GMFC-MLD-Score 0), aber vor mindestens 27 Monaten ihren kognitiven Krankheits-Onset hatten. Somit ergaben sich für die Analyse 3 Gruppen:

- 1.) Gruppe „ ≤ 27 Monate“: Patienten, die in weniger oder genau 27 Monaten von GMFC-MLD-Score 1 auf 2 eingestuft wurden.
- 2.) Gruppe „ > 27 Monate“: Patienten, die über 27 Monate im Level 1 blieben, ehe sie den GMFC-MLD-Score 2 erreichten.
- 3.) Gruppe „GMFC-MLD-Score 0“: Patienten, die sich zum Zeitpunkt ihrer letzten Untersuchung noch im Level 0 befanden, aber schon länger als 27 Monate kognitive Krankheitssymptome aufwiesen.

Präsymptomatische Patienten und diejenigen, deren Beobachtungszeitraum kürzer als 27 Monate dauerte, mussten aufgrund der geringen Aussagekraft ausgeschlossen werden; ebenso wie Patienten, bei denen kein frühes MRT-Bild vorhanden war.

Da der prognostische Wert der MRT-Parameter untersucht werden sollte, wurden nur möglichst früh im Krankheitsverlauf gelegene MRT-Zeitpunkte berücksichtigt. Dazu wurden die MRT-Bilder betrachtet, welche zeitlich am nächsten zur Diagnosestellung bzw. dem Krankheits-Onset lagen. Die Diagnosestellung fällt häufig in den Zeitraum unmittelbar nach Krankheits-Onset. Anschließend wurden die Unterschiede der MRT-Parameter in den 3 Patientengruppen mithilfe von Boxplots visualisiert. Zur statistischen Testung wurden die Patienten der beiden Gruppen „>27 Monate“ und „GMFC-MLD-Score 0“ zusammengefasst und als „langsam progredient“ definiert; die Patienten der Gruppe „≤27 Monate“ wurden als „rasch progredient“ bezeichnet. Aufgrund der relativ geringen Zahl an Daten, welche diese Kriterien erfüllen, wurde der nichtparametrische Mann-Whitney-U-Test (MWU-Test) verwendet.

Um zu zeigen, dass die Unterschiede der beiden Gruppen in den MRT-Parametern nicht auf Unterschiede im Untersuchungszeitpunkt zurückzuführen sind, wurde zusätzlich der Zeitraum von Symptom-Onset bis Bildzeitpunkt für die beiden Gruppen untersucht und verglichen. Dies gelang ebenfalls mit dem MWU-Test.

2.6.3 Lokalisation des Demyelination Loads und klinische Parameter

Um die Auswirkung von verschiedenen Lokalisationen der Demyelinisierung auf unterschiedliche Symptomkomplexe zu untersuchen, wurde in der vorliegenden Arbeit das sog. Voxel-based lesion-symptom mapping (VLSM) verwendet (s. auch Strölin et al. 2017). Anders als bei konventionellen lesion-symptom mapping – Verfahren, wird hier die Beziehung zwischen Gewebsschädigung und Symptom Voxel-für-Voxel untersucht (Bates et al. 2003). Hiernach werden die Patienten für jeden Voxel in zwei Gruppen unterteilt: Entweder ist der Voxel von einer Läsion betroffen oder nicht. Anschließend wird getestet, wie sich die Symptomausprägung für die beiden Gruppen unterscheiden. Da durch VLSM mehr Informationen als bei bisherigen lesion-mapping-Methoden berücksichtigt werden, ist dieses Verfahren gut zur Hypothesen-Testung geeignet (Bates et al. 2003).

Problematisch bei VLSM und der zugrundeliegenden Voxel-für-Voxel-Betrachtung ist, dass es durch die multiplen Testungen zu einer Alphafehler-Kumulierung kommen kann. Zur Korrektur der multiplen Testung wurde die False Discovery Rate (FDR) mit 5%-Signifikanzniveau verwendet. Dieses Vorgehen wurde in der Literatur bereits als sinnvoll beschrieben (Genovese et al. 2002, Rorden et al. 2007). Die Ergebnisse der Korrektur werden anschließend als z-Scores dargestellt.

Zu unterscheiden sind nun binominale und kontinuierliche Merkmalausprägungen. Als binominal-verteilt werden Merkmale bezeichnet, bei denen die Patienten ein Symptom entweder ausprägen oder nicht. Patienten in kontinuierlichen Gruppen bilden ein gewisses Merkmal in unterschiedlich starker Ausprägung aus und sind dementsprechend bewertet.

Um den Einfluss des Demyelination Loads auf IQ, Aspekte des Sprachverlusts und GMFC-MLD-Score zu untersuchen, wurde hier die kontinuierliche Analyse verwendet. Dazu eignet sich Rorden et al. zu Folge besonders der sog. Brunner-Munzel-Test (BMT) (Rorden et al. 2007). Der Empfehlung zur Verwendung des BMTs bei kleineren Patientengruppen folgend, wurde zusätzlich zur FDR-Korrektur noch die Permutation-Korrektur mit 1000 Permutationen und 5%-Signifikanzniveau zur Korrektur der multiplen Testung und Überprüfung der Ergebnisse auf Signifikanz verwendet (Medina et al. 2010).

Der Unterschied von Demyelinisierungslokalisationen in den Gruppen mit normaler Kognition oder kognitiven Defiziten sowie zwischen den langsam und rasch progredienten Patienten wurde in binominalen Gruppen analysiert. Die Testung auf Signifikanz erfolgte mit dem Liebermeister-Test.

Zur Erstellung der VLSMs wurde das MRICron-Tool „Non-parametric mapping“ (NPM) von Chris Rorden verwendet. Für die Analysen wurden die Standardeinstellungen des Tools verwendet und Voxel, welche bei weniger als 10% der analysierten Masken beschädigt waren, ignoriert. Zur Korrektur multipler Vergleiche wurden FDR- und Permutation-Korrekturen (beide 5%-Signifikanzniveau) durchgeführt.

Als Voraussetzung für das Mapping war eine Normalisierung der Demyelination Load-Masken notwendig, um die räumliche Vergleichbarkeit der demyelinisierten Hirnareale zu gewährleisten. Der Erfolg der räumlichen Normalisierung wurde visuell durch zwei Untersucher (Dr. S.G. und M.S.) überprüft. Datensätze die aufgrund schlechter Bildqualität nicht normalisiert werden konnten, wurden ausgeschlossen (n=12).

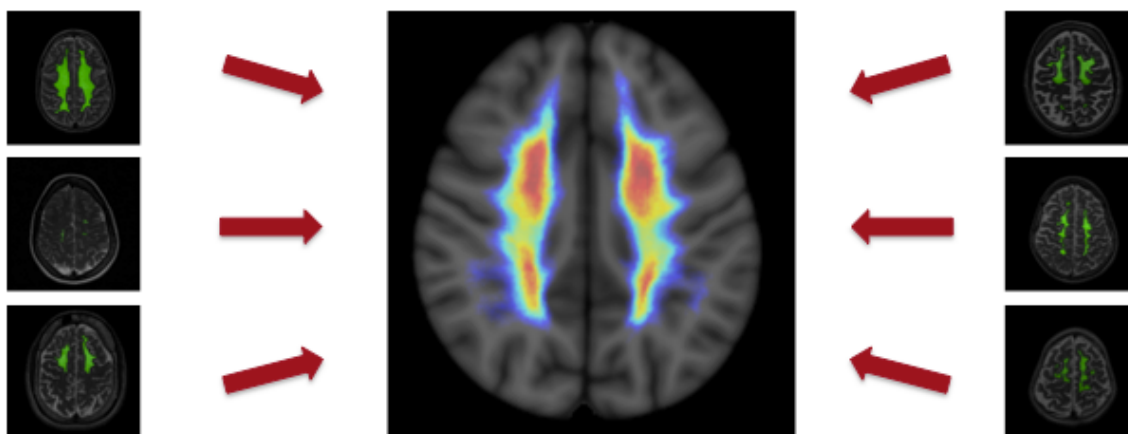


Abb. 7: Schematische Zusammenfassung des VLSM. Zunächst werden die verschiedenen DL-Masken gesammelt und normalisiert. Anschließend werden die DL-Masken in einen standardisierten Referenzraum transformiert. Dort werden sie kongruent übereinander gelegt um die Lokalisation der Läsionen mit bestimmten Symptomen in Zusammenhang zu bringen.

Für die Untersuchung der Unterschiede in der Lokalisation der Demyelinisierung bei langsam und rasch progredienten Patienten wurden die gleichen MRT-Zeitpunkte gewählt wie in Kapitel 2.6.2 beschrieben. Hierbei handelt es sich für jeden Patienten um das Bild zeitlich nahe zur Diagnosestellung. Ziel war es dabei, ein räumliches Muster für Patienten mit raschem Krankheitsprogress zu ermitteln.

2.6.4 MRT-Parameter im Krankheitsverlauf mit und ohne Stammzelltransplantation

Um den modifizierenden Effekt der Stammzelltransplantation auf die Gehirnveränderungen darzustellen, wurde die Entwicklung der Hirnveränderungen der transplantierten denen der nicht-transplantierten Patienten gegenübergestellt. Dazu wurden die Parameter MRI-Severity-Score, Demyelination Load, Hirnvolumen und dem Quotienten aus Demyelination Load und Hirnvolumen über die

Zeit aufgetragen. Für die unbehandelten Patienten wurde anhand des jeweils letzten Untersuchungszeitpunktes eine Querschnittsanalyse durchgeführt. Dieser wurden die Verläufe der transplantierten Patienten gegenübergestellt.

Für eine Übersicht über die Hirnveränderungen sowohl des natürlichen als auch des durch die hämatopoetische Stammzelltransplantation beeinflussten individuellen Verlaufs ist als Zeitachse das Alter der Patienten zum MRT-Zeitpunkt herangezogen worden.

In einer zweiten Untersuchung wurde der Krankheits-Onset als Zeitpunkt $t_0 = 0$ festgelegt. Dadurch soll die Demyelinisierung und Hirnvolumenänderungen über den Krankheitsverlauf veranschaulicht werden. Um möglichst viele Daten in dieses Schaubild einschließen zu können, wurde bei transplantierten Patienten ohne bisherigen Symptom-Onset, der Zeitpunkt der Transplantation als $t_0 = 0$ definiert.

Als Drittes wurde der Einfluss der Stammzelltransplantation auf die Entwicklung der Hirnmorphologie der transplantierten Patienten veranschaulicht, indem der Zeitpunkt der Transplantation als $t_0 = 0$ definiert wurde.

Nach der Gegenüberstellung der MRT-Parameter im Krankheitsverlauf mit und ohne Stammzelltransplantation, wurde der Unterschied der MRT-Parameter zwischen den Gruppen getestet. Von jedem Patienten ging jeweils das letzte vorhandene MRT-Bild in die Analyse ein, um möglichst langfristige Effekte im späten Krankheitsstadium der Patienten zu betrachten. Transplantierte Patienten wurden nur berücksichtigt, wenn mindestens 2 Jahre zwischen der Stammzelltransplantation und dem letzten verfügbaren MRT-Bild lagen. Damit konnte sichergestellt werden, dass Unterschiede zwischen den Patientengruppen in den MRT-Parametern auf den Therapieeffekt der Stammzelltransplantation zurückzuführen sind. Danach wurden die Unterschiede der MRT-Parameter zwischen den beiden Gruppen in Boxplots visualisiert und mithilfe des t-Test untersucht.

Um die Vergleichbarkeit der beiden Gruppen sicherzustellen, wurde abschließend das durchschnittliche Patientenalter den Beobachtungszeiträumen (Zeit von Onset bis MRT) der Patienten mit dem T-Test gegenübergestellt.

2.6.5 Prognostische Aussagekraft der MRT-Parameter für den Therapieerfolg der Stammzelltransplantation

Zur Untersuchung der prognostischen Aussagekraft der MRT-Parameter vor Stammzelltransplantation auf den therapeutischen Erfolg bei den transplantierten Patienten wurden diese in 2 Gruppen aufgeteilt.

Die Kriterien zur Einteilung der Patienten bezogen sich auf den Fortschritt der motorischen (GMFC-MLD-Score) und kognitiven (IQ) Krankheitssymptome nach der Transplantation. Eingeschlossen wurden Patienten, die mindestens 2 Jahre nach Stammzelltransplantation nachbeobachtet wurden:

- 1.) Gruppe „Progression nach HSZT“: Patienten, die sich nach der hämatopoetischen Stammzelltransplantation entweder um mehr als einen GMFC-MLD-Score *oder* mehr als 15 IQ-Punkte verschlechtert haben.
- 2.) Gruppe „Stabilisierung nach HSZT“: Patienten, die sich nach der hämatopoetischen Stammzelltransplantation weder um mehr als einen GMFC-MLD-Score noch um mehr als 15 IQ-Punkte verschlechtert haben.

Patienten, die kein MRT-Bild vor der Stammzelltransplantation hatten, wurden für die Outcome-Beurteilung ausgeschlossen. Die MRT-Daten vor der Stammzelltransplantation wurden im Rahmen eines Kooperationsprojektes auch von in anderen deutschen Zentren transplantierten Patienten eingeschlossen.

Es wurden für jeden Patienten der MRT-Untersuchungszeitpunkte direkt vor der Stammzelltransplantation bewertet, um eine möglichst genaue Aussage zur Prognosefähigkeit der Parameter treffen zu können. Die Analyse der Unterschiede zwischen den beiden Outcome-Gruppen erfolgte mit dem MWU-Test.

2.6.6 Reliabilität der Demyelination Load Quantifizierung

Die Bestimmung der Intrarater-Reliabilität, d.h. der Reproduzierbarkeit der Demyelination Load-Quantifizierung, erfolgte durch die Verwendung des Dice similarity coefficient (DSC). Der DSC gibt als Maß für die Kongruenz die räumliche Überschneidung der markierten Voxel wieder (Clas et al. 2012). Weiter fassen Clas et al. zusammen, dass ein DSC = 0 keine Kongruenz und ein DSC = 1

vollständige Kongruenz bedeuten (Clas et al. 2012). DSC-Werte $>0,7$ wurden in der Literatur bisher als „gut“ oder „hoch“ eingeschätzt (Zou et al. 2004, Seghier et al. 2008, Garcia-Lorenzo et al. 2009, Clas et al. 2012).

Zur Bestimmung des DSC wurden zufällig ausgewählte MRT-Datensätze ($n=10$) von einem Untersucher (M.S.) in einem zeitlichen Abstand von 2 Monaten erneut gemessen.

3 Ergebnisse

3.1 Korrelation MRT-Parameter mit klinischen Parametern

3.1.1 IQ

Zu 25 Patienten wurden testpsychologische Ergebnisse gefunden. Diese Gruppe setzte sich aus 10 transplantierten und 15 nicht-transplantierten Patienten zusammen. Insgesamt konnte so 57 Datensätzen ein IQ-Wert zugeordnet werden. Wie in Tabelle 4 zu sehen ist, gehörten 38 der IQ-Werte zu transplantierten und 19 zu nicht-transplantierten Patienten.

Tab. 4: Verteilung der IQ-Daten. Die Tabelle gibt die Verteilung der IQ-Werte auf die beiden Patientengruppen an.

Patientengruppe	Datensätze mit IQ-Werten	Patienten mit IQ-Werten
transplantiert	38	10
nicht-transplantiert	19	15
Gesamtanzahl	57	25

In der folgenden Beschreibung des Zusammenhanges zwischen den IQ-Werten und den MRT-Messgrößen, wurden pro Parameter zwei unterschiedliche Streudiagramme betrachtet. Abbildung a) stellt die Gesamt- und b) Querschnittsdaten dar. Jeder Punkt gibt eine Beobachtungseinheit wieder. Zur Darstellung des linearen Zusammenhanges, wurde eine Regressionslinie angelegt und zusätzlich das 95%-Vertrauensintervall der Mittelwerte dargestellt.

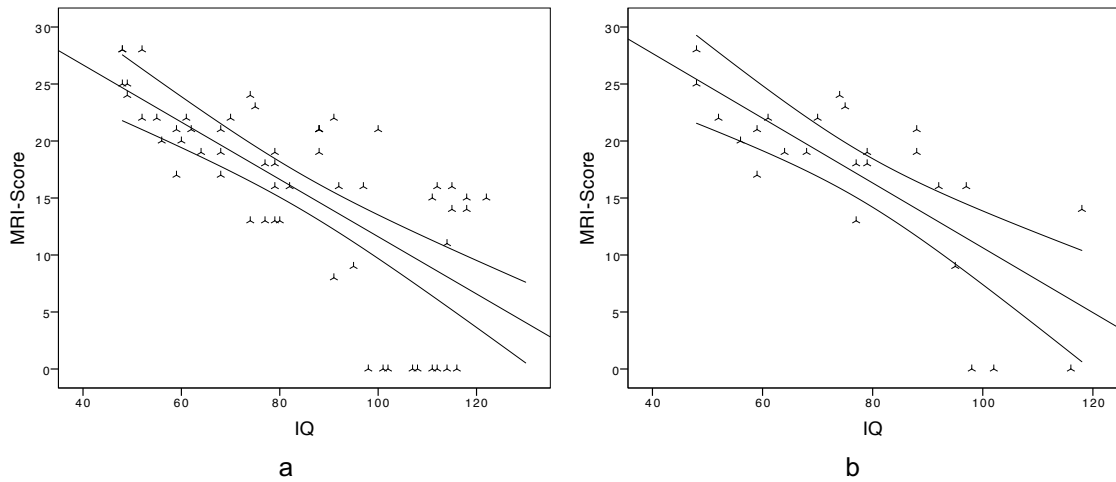


Abb. 8: Punktwolke und Regressionsgerade zur Darstellung des Zusammenhanges von IQ-Werten und MRI-Scores. Die Abbildung stellt den Zusammenhang der IQ-Werte mit den MRI-Score-Werten zum selben Beobachtungszeitpunkt dar. Punktwolke a) zeigt alle 57 IQ-Werte mit der Regressionsgeraden $y = 36,73 - 0,25 * x$ und Punktwolke b) jeweils nur den letzten Messpunkt der 25 Patienten mit der Geraden $y = 39,06 - 0,28 * x$.

In Abbildung 8 ist die Korrelation zwischen den IQ-Ergebnissen und den MRI-Scores dargestellt. Der Pearson Korrelationskoeffizient betrug $r = -0,70$ ($p < 0,0001$) für die Gesamt- und $r = -0,75$ ($p < 0,0001$) für die Querschnittsuntersuchung. Somit ergab sich eine signifikant negative Korrelation zwischen IQ-Werten und MRI-Scores.

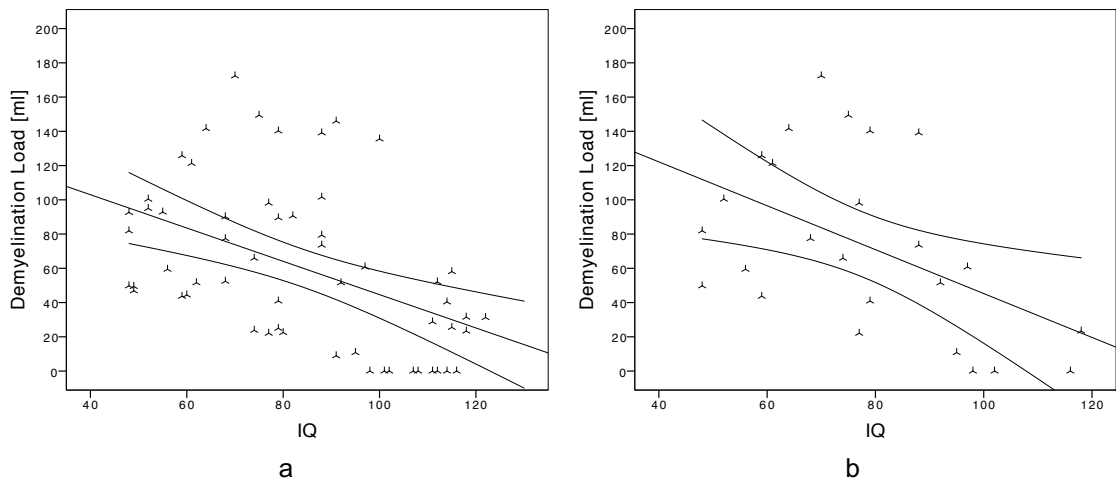


Abb. 9: Punktwolke und Regressionsgerade zur Darstellung des Zusammenhanges von IQ-Werten und dem DL. Die Abbildung stellt den Zusammenhang der IQ-Werte mit den Demyelination Load-Werten (in Millilitern) zum selben Beobachtungszeitpunkt dar. Punktwolke a) zeigt alle 57 IQ-Werte mit der Regressionsgeraden $y = 142 - 0,97 * x$ und Punktwolke b) jeweils nur den letzten Messpunkt der 25 Patienten mit der Geraden $y = 173 - 1,28 * x$.

Abbildung 9 gibt den Zusammenhang der Demyelination Load-Werte mit denen des IQs wieder. Für alle Zeitpunkte ergab sich der Korrelationskoeffizient $r=-0,47$ ($p<0,0001$). Auch die Querschnittsanalyse zeigte mit $r=-0,49$ ($p<0,01$) eine negative signifikante Korrelation für das Verhältnis von IQ und Demyelination Load.

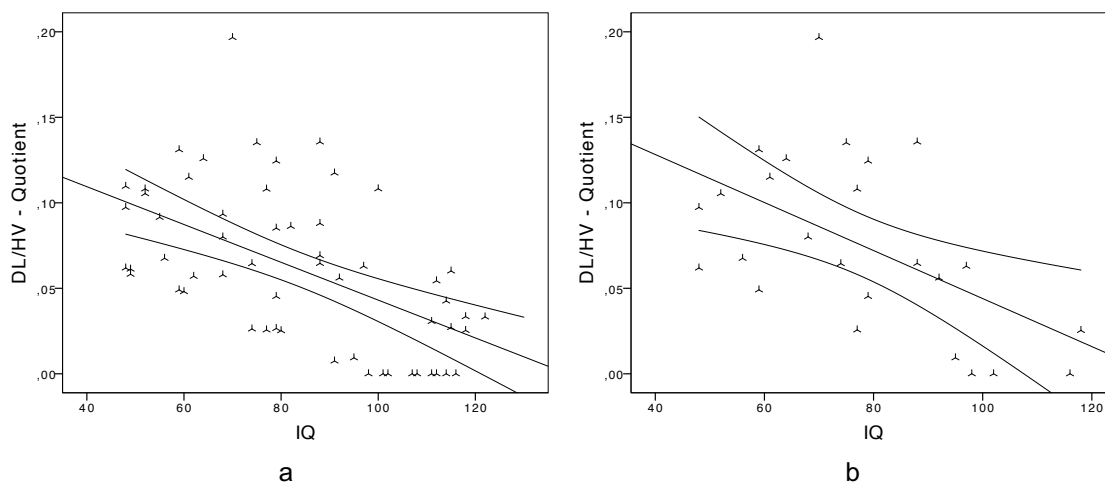


Abb. 10: Punktwolke und Regressionsgerade zur Darstellung des Zusammenhanges von IQ-Werten und dem Quotienten aus DL und HV. Die Abbildung stellt den Zusammenhang der IQ-Werte mit den Werten des Quotienten aus Demyelination Load und Hirnvolumen (DL/HV-Quotient) zum selben Beobachtungszeitpunkt dar. Punktwolke a) zeigt alle 57 IQ-Werte mit der Regressionsgeraden $y = 0,15 - 1,11 \cdot 10^{-3} \cdot x$ und Punktwolke b) jeweils nur den letzten Messpunkt der 25 Patienten mit der Geraden $y = 0,18 - 1,4 \cdot 10^{-3} \cdot x$. Abbildung 10a wurde bereits publiziert (s. Strölin et al. 2017).

Der negative Zusammenhang des Demyelination Loads und dem IQ wurde auch durch die Korrelation mit dem durch das Hirnvolumen korrigierte Demyelination Load gefunden (s. Abb. 10). Die Pearson Korrelation betrug $r=-0,55$ ($<0,0001$) für alle Werte und $r=-0,54$ ($p<0,01$) für die Querschnittsdaten (s. auch Strölin et al. 2016, Strölin et al. 2017). Somit konnte für den Quotienten aus Demyelination Load und Hirnvolumen eine noch deutlichere negative Korrelation mit den IQ-Werten gefunden werden.

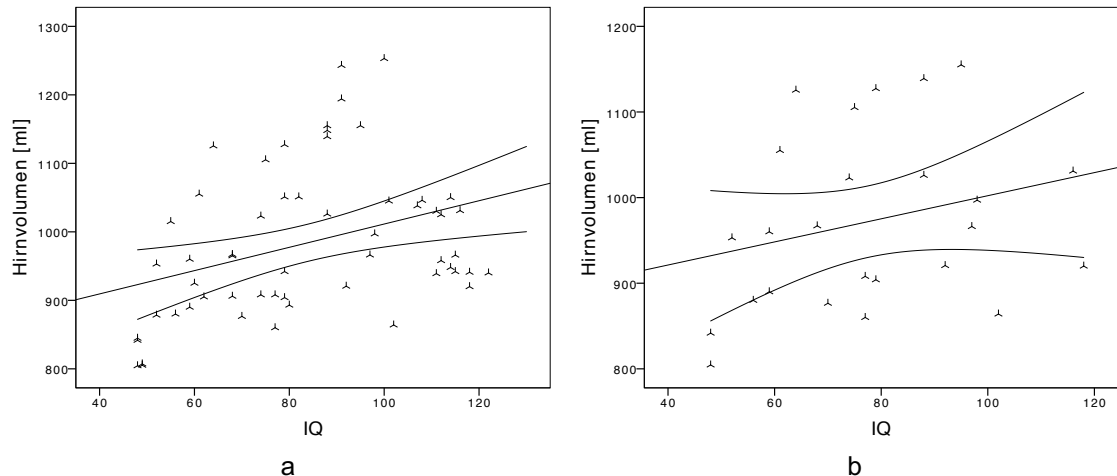


Abb. 11: Punktwolke und Regressionsgerade zur Darstellung des Zusammenhanges von IQ-Werten und dem HV. Die Abbildung stellt den Zusammenhang der IQ-Werte mit dem Hirnvolumen (in Millilitern) zum selben Beobachtungszeitpunkt dar. Punktwolke a) zeigt alle 57 IQ-Werte mit der Regressionsgeraden $y = 841 - 1,7 * x$ und Punktwolke b) jeweils nur den letzten Messpunkt der 25 Patienten mit der Geraden $y = 867 - 1,35 * x$.

Die Abbildung 11 zeigt die Punktwolke des Hirnvolumens mit den IQ-Werten zum selben Messzeitpunkt. Der Pearson Koeffizient betrug für die Gesamtdaten $r=0,36$ ($p<0,01$). Für die letzten Messzeitpunkte ergab sich ein Koeffizient von $r=0,26$ ($p=0,1$). Es zeigte sich somit für alle Daten eine signifikante, schwach positive Korrelation zwischen IQ und Hirnvolumen. Diese ließ sich bei der Querschnittsanalyse nicht wiederfinden.

Anhand der Einteilung der Patienten in die Gruppen mit normaler Kognition bzw. kognitiven Defiziten zum letzten Untersuchungszeitpunkt, konnten insgesamt 38 Patienten eingeschlossen werden; 13 in die Gruppe „normale Kognition“ und 25 in „kognitive Defizite“.

Insgesamt setzt sich das Kollektiv aus 11 transplantierten und 27 nicht-transplantierten Patienten zusammen.

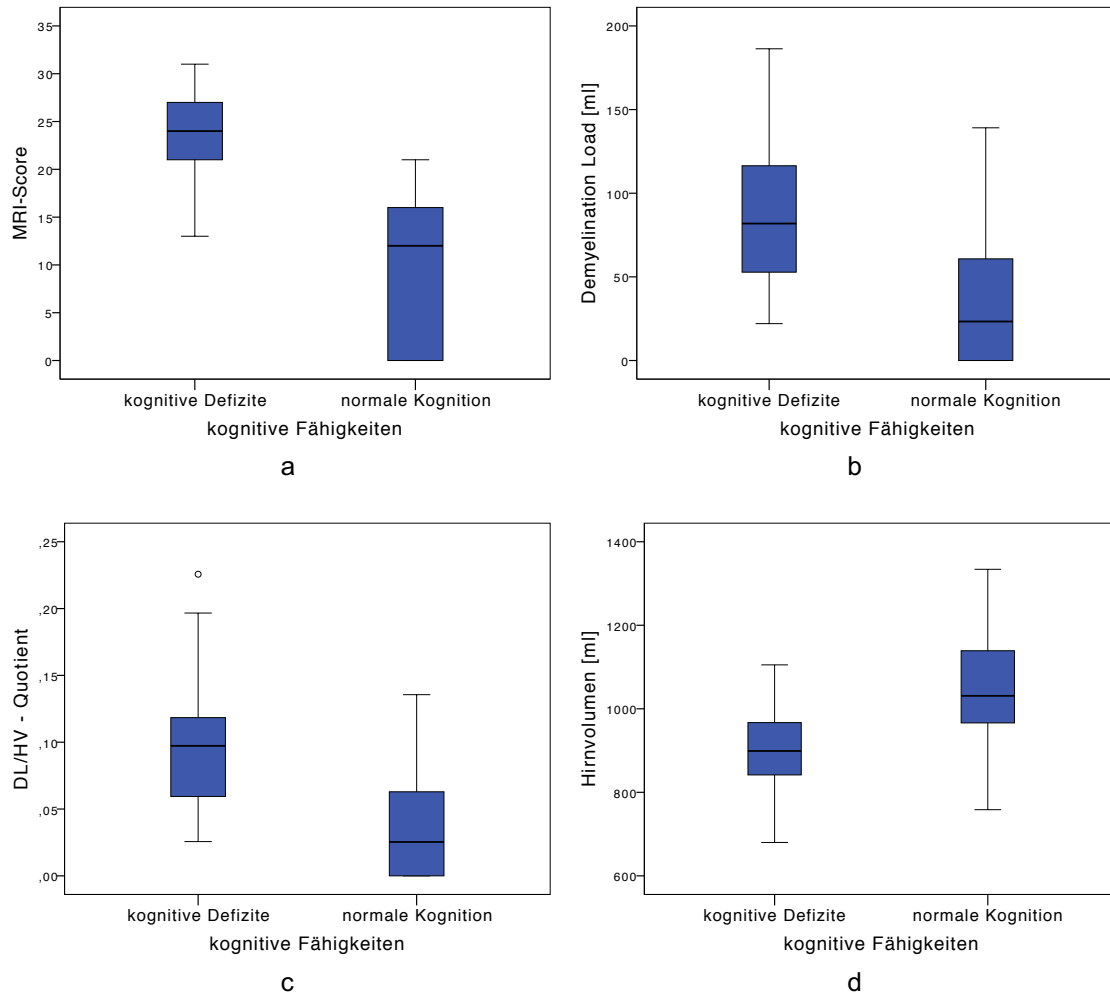


Abb. 12: Unterschied der MRT-Parameter bei Patienten mit normaler Kognition und kognitiven Defiziten. In den Boxplots a-d sind die 38 Patienten anhand ihrer kognitiven Fähigkeiten zum letzten Beobachtungszeitpunkt in zwei Gruppen eingeteilt. Die Unterschiede der beiden Gruppen beziehen sich auf a) den MRI-Score, b) den Demyelination Load (DL) in Millilitern (ml), c) den Quotienten aus Demyelination Load und Hirnvolumen (DL/HV-Quotient) und d) das Hirnvolumen in Millilitern (ml).

Die Boxplots in Abbildung 12 geben den Unterschied der MRT-Parameter zwischen Patienten mit normaler Kognition und kognitiven Defiziten wieder.

Die Mittelwerte von MRI-Score, Demyelination Load und DL/HV-Quotient waren in der Patientengruppe mit kognitiven Defiziten signifikant höher als in der Gruppe mit normaler Kognition. Das Hirnvolumen zeigte dagegen bei Patienten mit kognitiven Defiziten signifikant niedrigere Mittelwerte (s. Tabelle 5).

Tab. 5: Mittelwerte der MRT-Parameter bei Patienten mit normaler Kognition und kognitiven Defiziten. Die Tabelle gibt die Mittelwerte und Standardabweichungen der Parameter MRI-Score, Demyelination Load in Millilitern (ml), dem Quotienten aus Demyelination Load und Hirnvolumen und Hirnvolumen in Millilitern (ml) getrennt nach Gruppenzugehörigkeit an. Zusätzlich sind die Ergebnisse des t-Tests angegeben. Signifikanzniveau: $p < 0,05$.

MRT-Parameter	kognitive Defizite	normale Kognition	Signifikanz
MRI-Score	24 ($\pm 4,69$)	10 ($\pm 7,95$)	$p < 0,0001$
Demyelination Load ml	91,8 ($\pm 45,07$)	41,2 ($\pm 49,52$)	$p = 0,0015$
DL/HV-Quotient	0,101 ($\pm 0,049$)	0,038 ($\pm 0,047$)	$p < 0,001$
Hirnvolumen ml	904,9 ($\pm 111,07$)	1050,4 ($\pm 164,72$)	$p = 0,0015$

Der t-Test ergab einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen mit Patienten normaler Kognition und kognitiven Defiziten für die Mittelwerte von MRI-Score, Demyelination Load, den DL/HV-Quotienten und das Hirnvolumen (s. Tabelle 5).

3.1.2 Aspekte des Sprachverlusts

Zu 43 Patienten wurden Dokumentationen der Sprachfähigkeit gefunden. Darunter waren 11 transplantierte und 32 nicht-transplantierte Patienten. Insgesamt konnten 134 Datensätzen ausgewertet werden. Die Verteilung der Datensätze auf die Therapiegruppen ist Tabelle 6 zu entnehmen.

Tab. 6: Verteilung der Daten zu den Aspekten des Sprachverlusts. Die Tabelle zeigt die Verteilung der Daten auf die beiden Patientengruppen an.

Patientengruppe	Datensätze mit Sprachdaten	Patienten mit Sprachdaten
transplantiert	68	11
nicht-transplantiert	66	32
Gesamtanzahl	134	43

Tabelle 7 zeigt die Verteilung der Gesamt- und Querschnittsdaten auf die Gruppen „keine Sprachsymptome“, „Sprachsymptome“ und „Sprachverlust“:

Tab. 7: Verteilung der Daten auf die Gruppen mit unterschiedlichen Aspekten des Sprachverlusts. Die Tabelle zeigt die Verteilung der Daten auf die drei Patientengruppen mit unterschiedlichen Aspekten des Sprachverlusts an.

	alle MRT-Zeitpunkte	Querschnittsdaten
keine Sprachsymptome	81	21
Sprachsymptome	44	16
Sprachverlust	9	6
Gesamtzahl	134	43

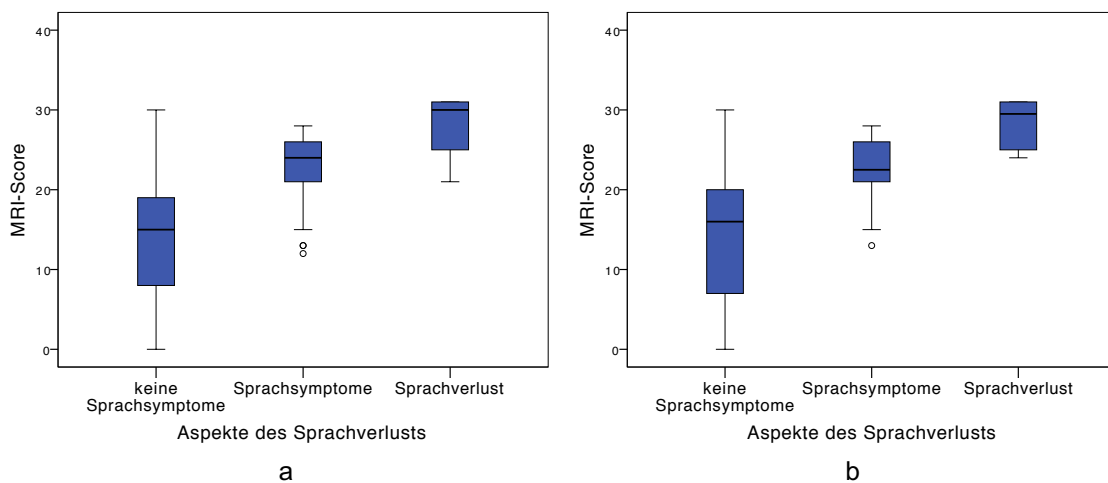


Abb. 13: Unterschied des MRI-Scores bei Patienten mit verschiedenen Aspekten des Sprachverlusts. Die Boxplots stellen den Unterschied der MRI-Scores bei verschiedenen Aspekten des Sprachverlusts dar. Abbildung a) zeigt alle 134 MRT-Untersuchungspunkte und b) den jeweils letzten Zeitpunkt der 43 Patienten.

Abbildung 13 zeigt, dass der MRI-Score sowohl für alle MRT-Daten als auch für die Querschnittsdaten, signifikant mit der klinischen Schwere der verschiedenen Aspekte des Sprachverlusts anstieg (s. Tabelle 8).

Tab. 8: Mittelwerte des MRI-Scores bei Patienten mit unterschiedlichen Aspekten des Sprachverlusts. Die Tabelle gibt die Mittelwerte und Standardabweichungen des MRI-Scores bei den verschiedenen Aspekten des Sprachverlusts wieder. Zusätzlich sind die Ergebnisse des t-Tests angegeben. Signifikanzniveau: $p < 0,05$.

	Alle MRT-Daten		Querschnittsdaten	
	Mittelwert	Signifikanz	Mittelwert	Signifikanz
Keine Symptome	12,9 ($\pm 8,03$)	$p < 0,00000001$	14,0 ($\pm 9,39$)	$p < 0,001$
Sprachsymptome	23,1 ($\pm 4,15$)		22,6 ($\pm 4,34$)	
Sprachverlust	28,1 ($\pm 3,79$)	$p < 0,001$	28,3 ($\pm 3,08$)	$p < 0,01$

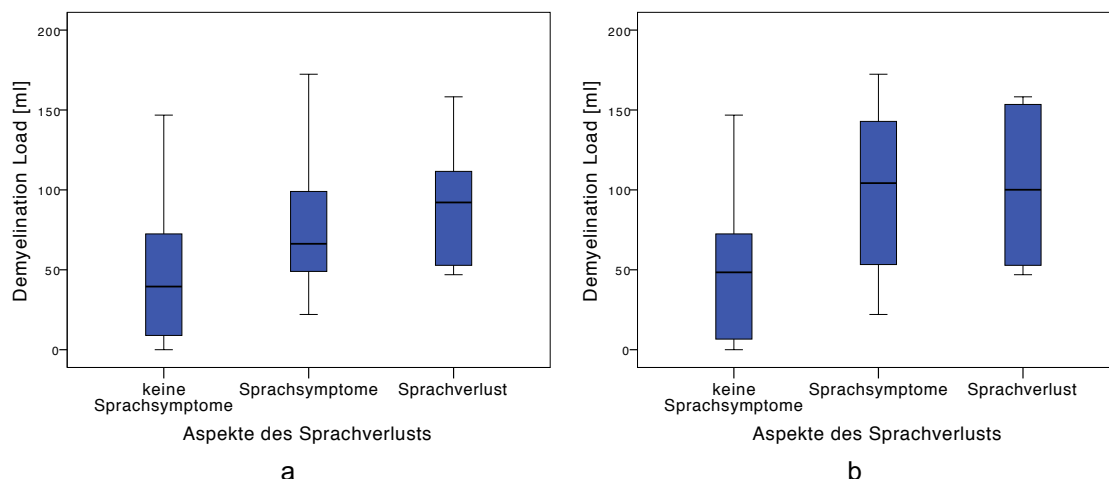


Abb. 14: Unterschied des DL bei Patienten mit unterschiedlichen Aspekten des Sprachverlusts. Die Boxplots stellen den Unterschied der Demyelination Loads (in Millilitern) bei verschiedenen Aspekten des Sprachverlusts dar. Abbildung a) zeigt alle 134 MRT-Untersuchungspunkte und b) den jeweils letzten Zeitpunkt der 43 Patienten.

Patienten mit Sprachsymptomen und komplettem Sprachverlust wiesen einen signifikant höheren Demyelination Load im Vergleich zu Patienten ohne Sprachsymptome auf (s. Abb. 14). Lediglich zwischen den beiden Patientengruppen „Sprachsymptome“ und „Sprachverlust“ konnte kein signifikanter Unterschied gefunden werden (s. Tabelle 9).

Tab. 9: Mittelwerte des DL bei Patienten mit unterschiedlichen Aspekten des Sprachverlusts. Die Tabelle gibt die Mittelwerte und Standardabweichungen des Demyelination Loads (in Millilitern) bei den verschiedenen Aspekten des Sprachverlusts wieder. Zusätzlich sind die Ergebnisse des t-Tests angegeben. Signifikanzniveau: $p < 0,05$.

	Alle MRT-Daten		Querschnittsdaten	
	Mittelwert	Signifikanz	Mittelwert	Signifikanz
Keine Symptome	48,7 ($\pm 44,80$)	$p < 0,001$	50,6 ($\pm 44,95$)	$p < 0,01$
Sprachsymptome	78,0 ($\pm 39,34$)		98,9 ($\pm 46,18$)	
Sprachverlust	95,2 ($\pm 41,34$)	$p = 0,12$	101,9 ($\pm 48,04$)	$p = 0,45$

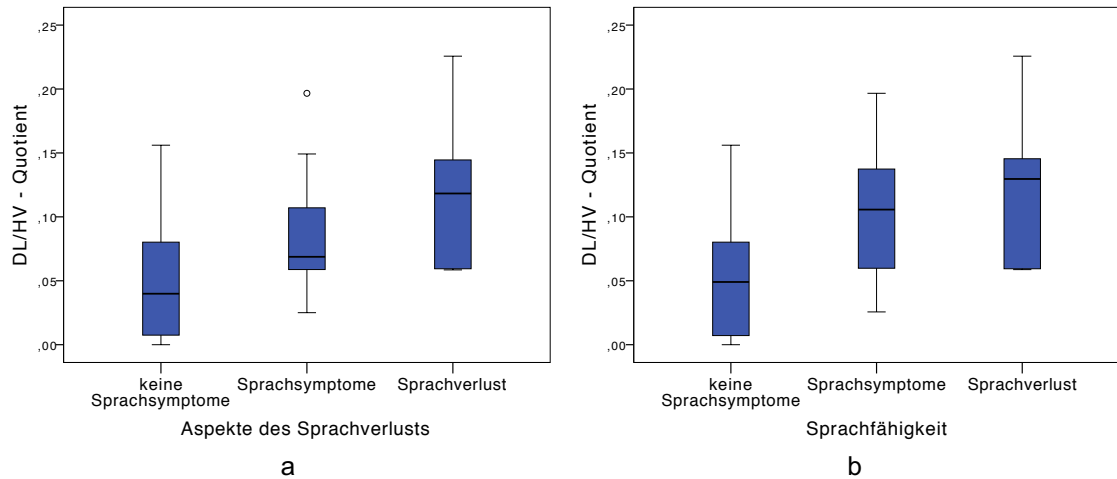


Abb. 15: Unterschied des Quotienten aus DL und HV bei Patienten mit unterschiedlichen Aspekten des Sprachverlusts. Die Boxplots stellen den Unterschied des Quotienten aus Demyelination Load und Hirnvolumen (DL/HV-Quotient) bei verschiedenen Aspekten des Sprachverlusts dar. Abbildung a) zeigt alle 134 MRT-Untersuchungspunkte und b) den jeweils letzten Zeitpunkt der 43 Patienten.

Der Quotient aus Demyelination Load und Hirnvolumen war für alle Untersuchungszeitpunkte bei der jeweils stärker beeinträchtigten Patientengruppe signifikant erhöht (siehe Abbildung 15 und Tabelle 10). Die Querschnittsdaten konnten diesen Unterschied bestätigen; nur die Patienten der beiden Gruppen „Sprachsymptome“ und „Sprachverlust“ waren hier nicht signifikant verschieden voneinander (s. Tabelle 10).

Tab. 10: Mittelwerte des DL/HV-Quotienten bei Patienten mit unterschiedlichen Aspekten des Sprachverlusts. Die Tabelle gibt die Mittelwerte und Standardabweichungen des Quotienten aus Demyelination Load und Hirnvolumen bei den verschiedenen Aspekten des Sprachverlusts wieder. Zusätzlich sind die Ergebnisse des t-Tests angegeben. Signifikanzniveau: $p < 0,05$.

	Alle MRT-Daten		Querschnittsdaten	
	Mittelwert	Signifikanz	Mittelwert	Signifikanz
Keine Symptome	0,048 ($\pm 0,0427$)	$p < 0,00001$	0,053 ($\pm 0,0475$)	$p < 0,01$
Sprachsymptome	0,083 ($\pm 0,0372$)		0,102 ($\pm 0,0453$)	
Sprachverlust	0,117 ($\pm 0,0543$)	$p = 0,012$	0,125 ($\pm 0,0628$)	$p = 0,18$

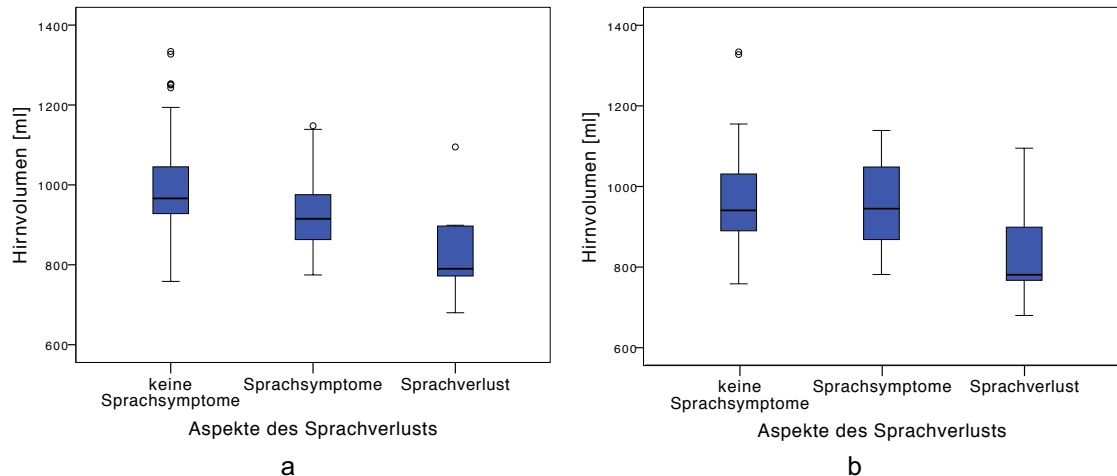


Abb. 16: Unterschied des HV bei Patienten mit unterschiedlichen Aspekten des Sprachverlusts. Die Boxplots stellen den Unterschied des Hirnvolumens (in Millilitern) bei verschiedenen Aspekten des Sprachverlusts dar. Abbildung a) zeigt alle 134 MRT-Untersuchungspunkte und b) den jeweils letzten Zeitpunkt der 43 Patienten.

Die Veränderung des Hirnvolumens bei den unterschiedlichen Aspekten des Sprachverlusts ist Abbildung 16 zu entnehmen. Die Patienten mit stärkerem Funktionsverlust der Sprachfähigkeit wiesen dabei ein signifikant niedrigeres Hirnvolumen als die Patienten der jeweils milder betroffenen Gruppe auf. In den Querschnittsdaten unterschieden sich die Patienten ebenfalls signifikant; dies galt jedoch nicht für die beiden Gruppen „keine Sprachsymptome“ und „Sprachsymptome“ (s. Tabelle 11).

Tab. 11: Mittelwerte des HV bei Patienten mit unterschiedlichen Aspekten des Sprachverlusts. Die Tabelle gibt die Mittelwerte und Standardabweichungen des Hirnvolumens (in Millilitern) bei den verschiedenen Aspekten des Sprachverlusts wieder. Zusätzlich sind die Ergebnisse des t-Tests angegeben. Signifikanzniveau: $p < 0,05$.

	Alle MRT-Daten		Querschnittsdaten	
	Mittelwert	Signifikanz	Mittelwert	Signifikanz
Keine Symptome	1000,7 (±114,07)	$p < 0,001$	979,8 (±150,32)	$p = 0,3$
Sprachsymptome	928,7 (±101,63)		956,3 (±110,54)	
Sprachverlust	830,0 (±119,90)	$p < 0,01$	833,9 (±145,82)	$p < 0,05$

3.1.3 GMFC-MLD-Score

Zu allen 137 Datensätzen der 46 Patienten konnten GMFC-MLD-Werte zugeordnet werden.

Tabelle 12 zeigt die Verteilung der Daten auf die Therapiegruppen.

Tab. 12: Verteilung der GMFC-MLD-Daten. Die Tabelle zeigt die Verteilung der GMFC-MLD-Werte auf die beiden Patientengruppen an.

Patientengruppe	Datensätze mit GMFC-MLD-Werten	Patienten mit GMFC-MLD-Werten
transplantiert	68	11
nicht-transplantiert	69	35
Gesamtanzahl	137	46

Die Untersuchung der Korrelation vom GMFC-MLD-Score mit den MRT-Parametern wurde für alle Daten (linke Abbildung) und in einer Querschnittsanalyse für den jeweils letzten Untersuchungszeitpunkt der Patienten (rechte Abbildung) durchgeführt. Dabei stellt jeder Punkt im Diagramm eine Beobachtungseinheit aus MRT-Bild und GMFC-MLD-Messung dar.

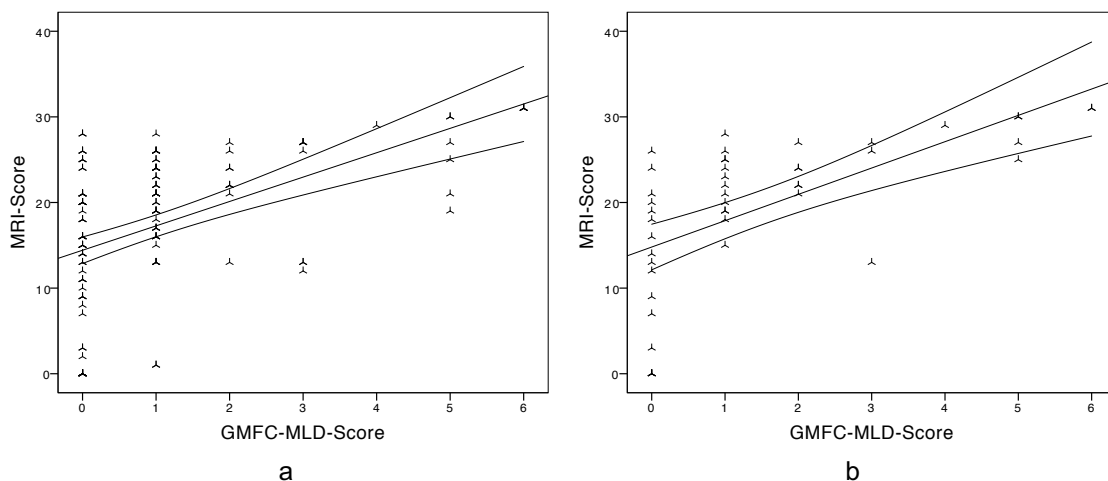


Abb. 17: Punktwolke und Regressionsgerade zur Darstellung des Zusammenhanges von GMFC-MLD-Scores und MRI-Scores. Die Abbildung stellt den Zusammenhang der GMFC-MLD-Werte mit den MRI-Score-Werten zum selben Beobachtungszeitpunkt dar. Punktwolke a) zeigt alle 137 GMFC-MLD-Werte mit der Regressionsgeraden $y = 14,42 + 2,85 * x$ und Punktwolke b) jeweils nur den letzten Messpunkt der 46 Patienten mit der Geraden $y = 14,8 + 3,08 * x$. Zusätzlich ist das 95%-Vertrauensintervall der Mittelwerte dargestellt.

In Abbildung 17 wird der Zusammenhang zwischen dem GMFC-MLD-Score und dem MRI-Score dargestellt. Spearmans Rangkorrelationskoeffizient betrug $\rho=0,53$ ($p<0,000000001$) für die Gesamtdaten und $\rho=0,74$ ($p<0,00000001$) für die Querschnittsdaten. Es ergab sich somit eine signifikant positive Korrelation zwischen GMFC-MLD-Werten und MRI-Scores.

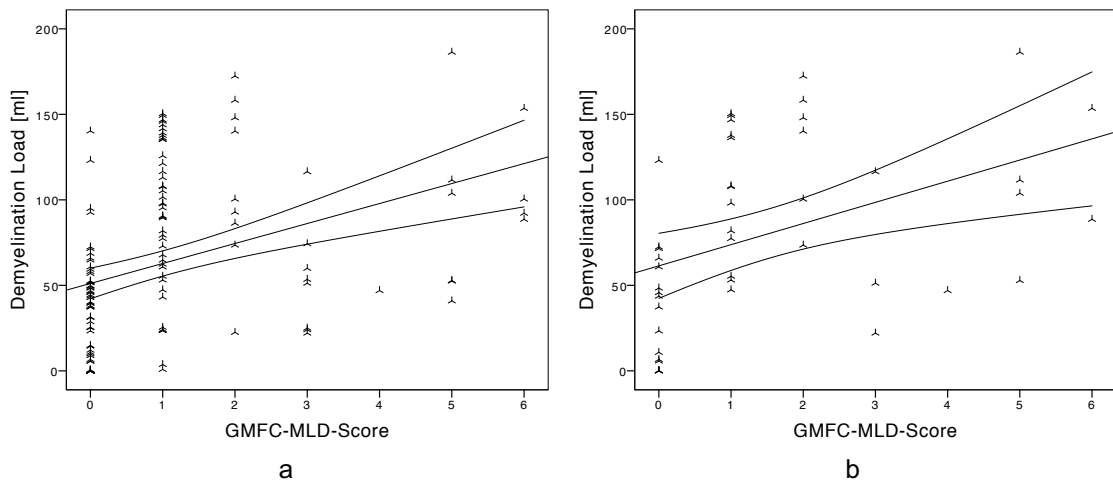


Abb. 18: Punktwolke und Regressionsgerade zur Darstellung des Zusammenhanges von GMFC-MLD-Scores und dem DL. Die Abbildung stellt den Zusammenhang der GMFC-MLD-Werte mit den Demyelination Load-Werten (in Millilitern) zum selben Beobachtungszeitpunkt dar. Punktwolke a) zeigt alle 137 GMFC-MLD-Werte mit der Regressionsgeraden $y = 51,09 + 11,69 * x$ und Punktwolke b) jeweils nur den letzten Messpunkt der 46 Patienten mit der Geraden $y = 61,4 + 12,38 * x$. Zusätzlich ist das 95%-Vertrauensintervall der Mittelwerte dargestellt.

Die Korrelation von GMFC-MLD-Score und Demyelination Load gibt Abbildung 18 wieder. Dabei ergab die Testung aller Bildzeitpunkte einen Rangkorrelationskoeffizienten von $\rho=0,54$ ($p<0,0000000001$); auch die Querschnittsdaten wiesen mit $\rho=0,56$ ($p<0,0001$) eine signifikant positive Korrelation auf.

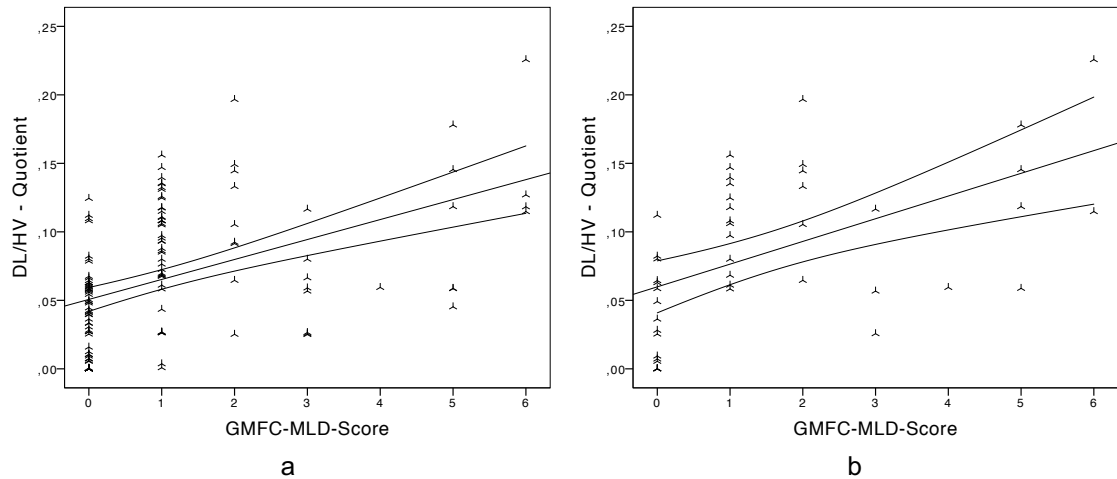


Abb. 19: Punktwolke und Regressionsgerade zur Darstellung des Zusammenhangs von GMFC-MLD-Scores und dem Quotienten aus DL und HV. Die Abbildung stellt den Zusammenhang der GMFC-MLD-Werte mit den Werten des Quotienten aus Demyelination Load und Hirnvolumen zum selben Beobachtungszeitpunkt dar. Punktwolke a) zeigt alle 137 GMFC-MLD-Werte mit der Regressionsgeraden $y = 0,05 + 0,01 * x$ und Punktwolke b) jeweils nur den letzten Messpunkt der 46 Patienten mit der Geraden $y = 0,06 + 0,02 * x$. Zusätzlich ist das 95%-Vertrauensintervall der Mittelwerte dargestellt. Abbildung 19a wurde bereits publiziert (s. Strölin et al. 2017).

Die positive Korrelation ließ sich auch bei dem Quotienten aus Demyelination Load und Hirnvolumen wiederfinden, und ist in Abbildung 19 abgebildet. Spearman's Rangkorrelationskoeffizient bestätigte mit $\rho=0,55$ ($p<0,00000000001$) sowohl für die Analyse der Gesamtdaten und mit $\rho=0,60$ ($p<0,00001$) auch für die Querschnittsanalyse den Zusammenhang zwischen dem durch das Hirnvolumen korrigierte Demyelination Load und dem GMFC-MLD-Score (s. auch Strölin et al. 2016, Strölin et al. 2017).

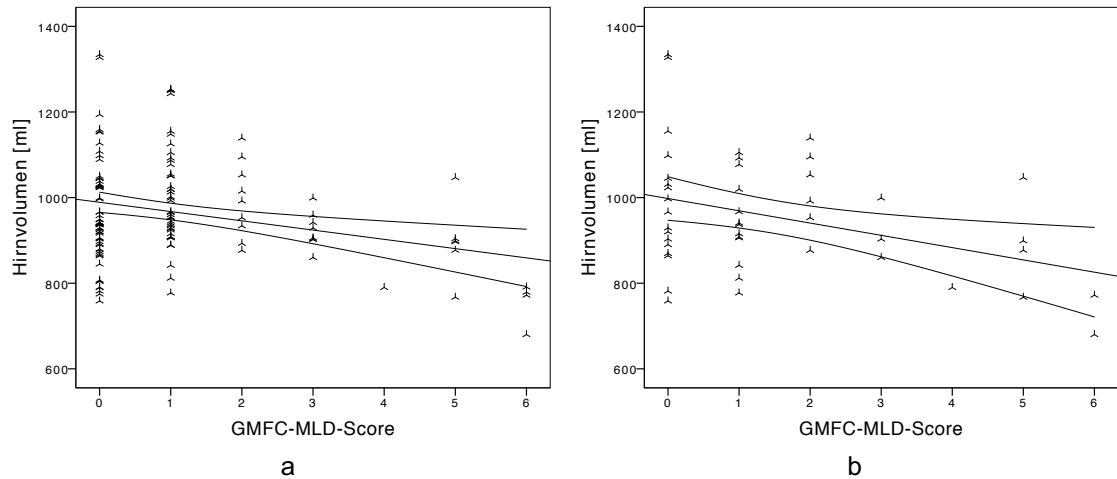


Abb. 20: Punktwolke und Regressionsgerade zur Darstellung des Zusammenhanges von GMFC-MLD-Scores und dem HV. Die Abbildung stellt den Zusammenhang der GMFC-MLD-Werte mit dem Hirnvolumen (in Millilitern) zum selben Beobachtungszeitpunkt dar. Punktwolke a) zeigt alle 137 GMFC-MLD-Werte mit der Regressionsgeraden $y = 989 - 21,64 * x$ und Punktwolke b) jeweils nur den letzten Messpunkt der 46 Patienten mit der Geraden $y = 998 - 26,68 * x$. Zusätzlich ist das 95%-Vertrauensintervall der Mittelwerte dargestellt.

In Abbildung 20 wird der Zusammenhang zwischen GMFC-MLD-Score und Hirnvolumen wiedergegeben. Spearmans Rangkorrelationskoeffizient zeigte mit $\rho = -0,11$ ($p = 0,107$) für alle MRT-Daten keine signifikante Korrelation. Bei der Analyse der Querschnittszeitpunkte wurde mit $\rho = -0,26$ ($p < 0,05$) eine schwach negative Korrelation gefunden.

3.2 Korrelation zwischen Lokalisation der Demyelinisierung und Symptomatik

3.2.1 IQ

Es konnten 50 Demyelination Load-Masken von 24 Patienten in das VLSM des IQs einbezogen werden (siehe Tabelle 13).

Tab. 13: Statistische Kenngrößen der VLSM (IQ). Die Tabelle enthält die Ergebnisse der Korrekturen. Signifikanzniveau: $p < 0,05$.

Maskenzahl / Patienten	Betroffene Bilder / Voxel	z-Score nach FDR-Korrektur	z-Score nach Permutation-Korrektur
50 / 24	mind. 5 / 236678	2.03650163	4.94540310

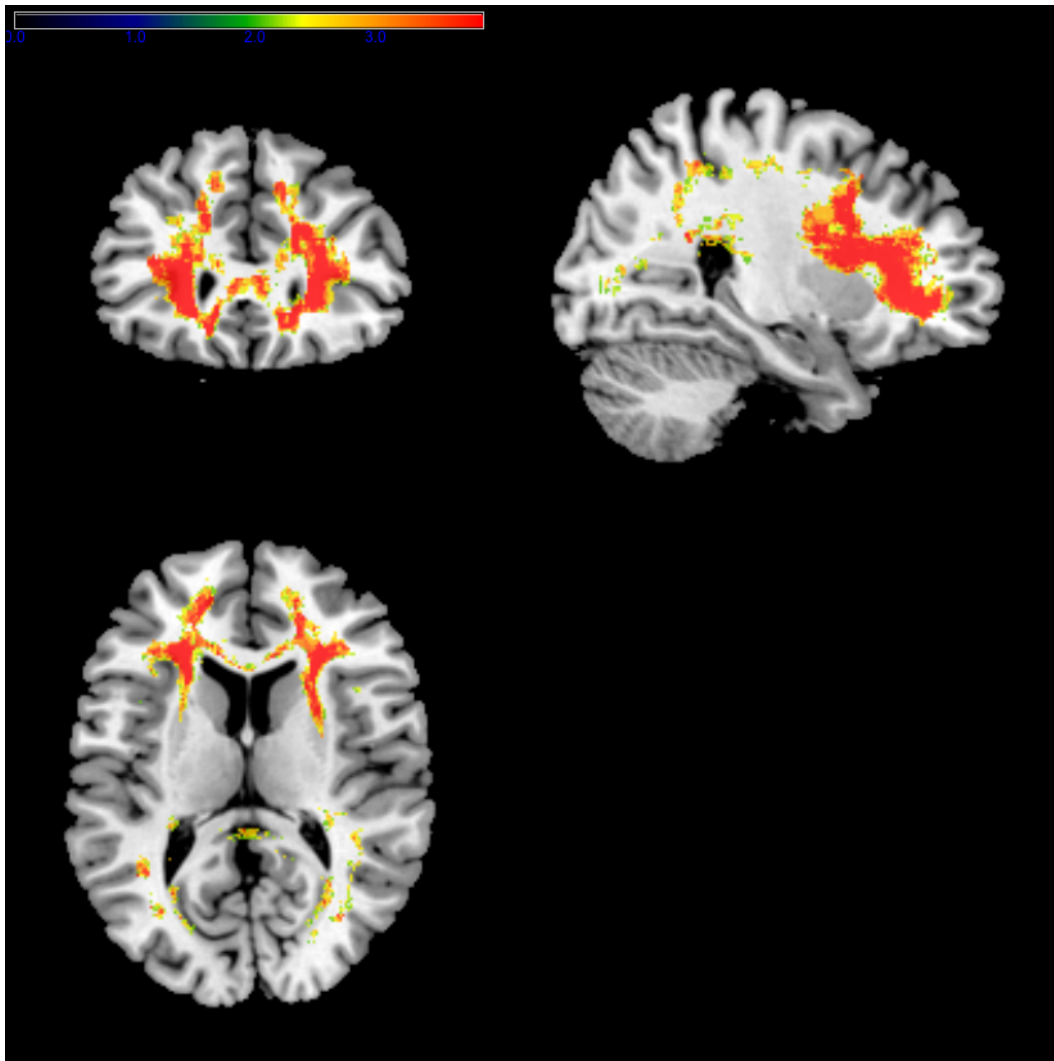


Abb. 21: Voxel-based lesion-symptom mapping der IQ-Werte. Die Abbildung zeigt die Korrelation der Demyelinisierungslokalisation mit den sinkenden IQ-Werten der 50 DL-Masken. Das VLSM basiert auf der 5%-FDR-Korrektur der Brunner-Munzel-Testung. Je signifikanter die Korrelation ausgeprägt ist, desto stärker ist die Rotfärbung des Areals. Abbildung 21 wurde bereits publiziert (s. Strölin et al. 2017).

Abbildung 21 zeigt den negativen Zusammenhang der Demyelinisierungslokalisationen mit den IQ-Werten. Die markierten Bereiche geben also die Hirnareale an, welche signifikant mit niedrigen IQ-Werten korrelieren.

Dabei fiel besonders die starke Betonung der Demyelinisierung von frontalem Marklager und Corpus callosum auf. Die parieto-okzipitalen Gebiete zeigten sich dabei wenig betroffen; die Zentralregion wies nahezu keine Korrelation zum IQ auf (s. auch Strölin et al. 2017).

Bei der größeren Einteilung des kognitiven Zustandes in die Gruppen „normale Kognition“ und „kognitive Defizite“ konnten insgesamt 111 Datensätze von 36 Patienten ausgewertet werden.

Tab. 14: Statistische Kenngrößen der VLSM (kognitive Defizite). Die Tabelle enthält die Ergebnisse der Korrekturen. Signifikanzniveau: $p < 0,05$.

Maskenzahl / Patienten	Betroffene Bilder / Voxel	z-Score nach FDR-Korrektur	z-Score nach Permutation-Korrektur
111 / 36	mind. 11 / 227872	1.84846237	4.50637054

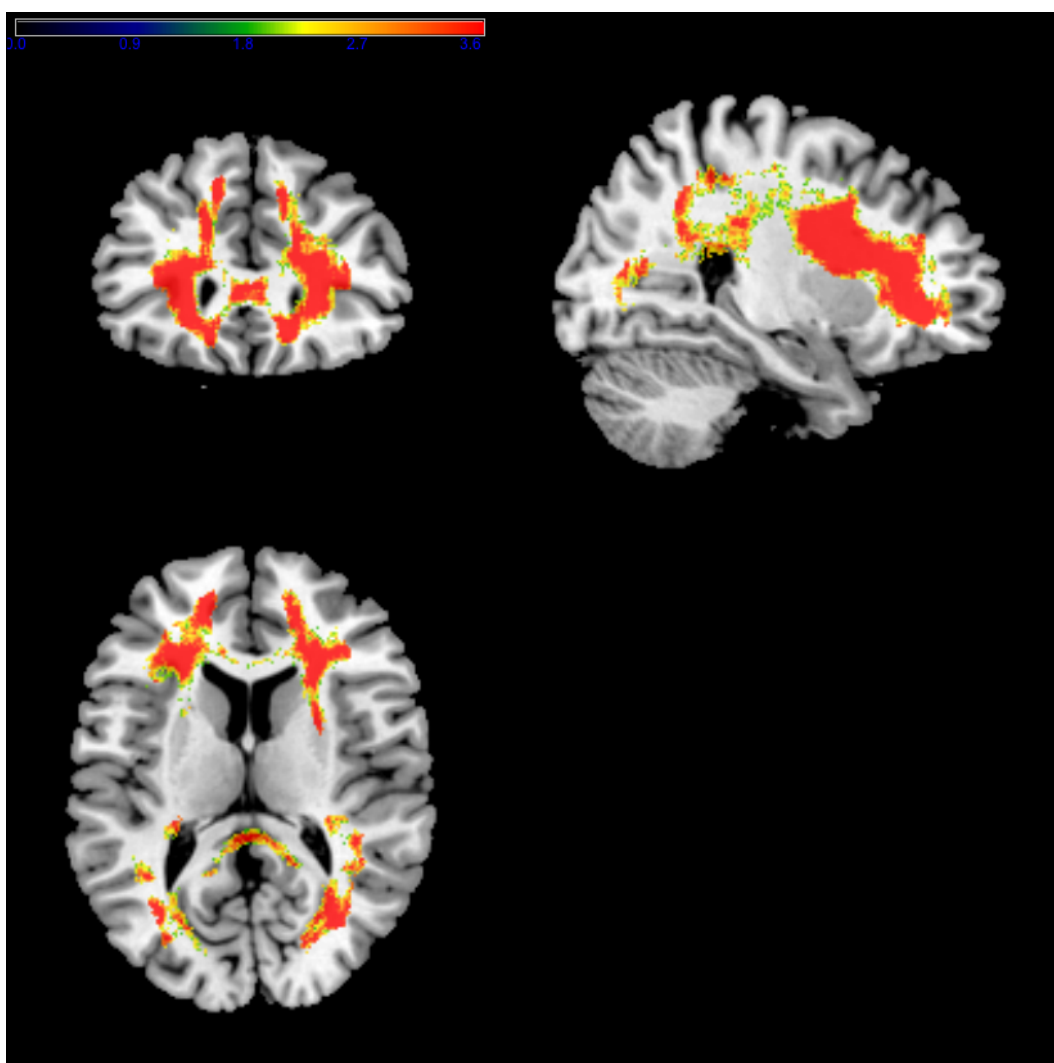


Abb. 22: Voxel-based lesion-symptom mapping der Patienten mit normaler Kognition und kognitiven Defiziten. Die Abbildung zeigt die Korrelation der Demyelinisierungslokalisation mit den beiden Gruppen „normale Kognition“ und „kognitive Defizite“ der 111 DL-Masken. Das VLSM basiert auf der 5%-FDR-Korrektur der Lieberman-Testung. Je signifikanter die Korrelation ausgeprägt ist, desto stärker ist die Rotfärbung des Areals.

Das VLSM aus Abbildung 22 zeigt eine vor allem frontale Regionen und das Corpus callosum betreffende, starke Korrelation von Demyelination Load-Lokalisation und Patienten mit kognitiven Defiziten. Damit ließ sich das Ergebnis der vorangegangenen Untersuchung bestätigen. Insgesamt wurde eine globalere Assoziation der kognitiven Symptome mit den Läsionsorten gefunden, die nun ebenfalls parieto-okzipital anzutreffen war. Die Zentralregion war im Vergleich nur relativ gering mitbetroffen.

Die Ergebnisse konnten bei beiden Analysen durch die Permutation-Korrektur bestätigt werden.

3.2.2 Aspekte des Sprachverlusts

Das VLSM für die Korrelation von Demyelination Load-Lokalisation und den Aspekten des Sprachverlusts wurde aus 122 Demyelination Load-Masken von insgesamt 41 Patient errechnet.

Tab. 15: Statistische Kenngrößen der VLSM (Aspekte des Sprachverlusts). Die Tabelle enthält die Ergebnisse der Korrekturen. Signifikanzniveau: $p < 0,05$.

Maskenanzahl / Patienten	Betroffene Bilder / Voxel	z-Score nach FDR-Korrektur	z-Score nach Permutation-Korrektur
122 / 41	mind. 12 / 231600	2.03768776	5.19338226

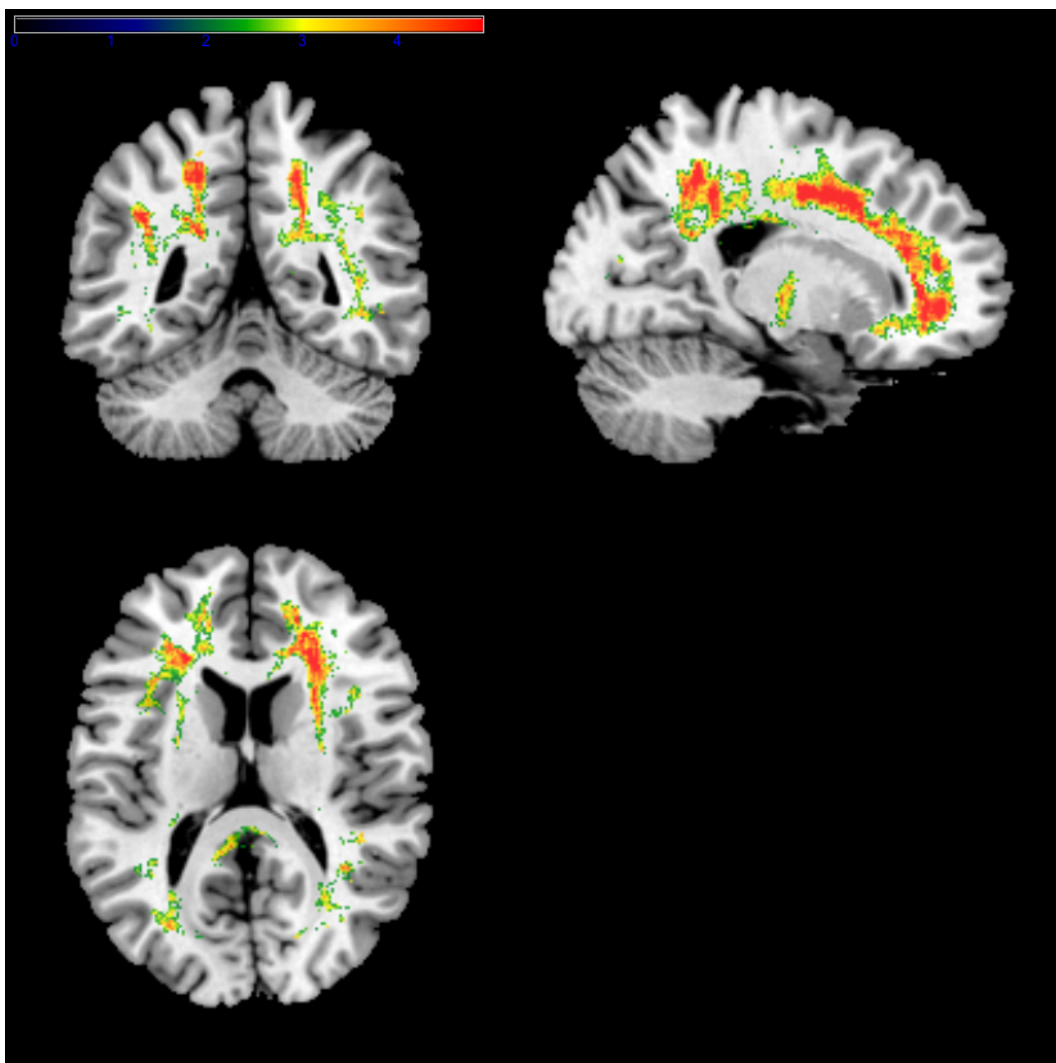


Abb. 23: Voxel-based lesion-symptom mapping der Aspekte des Sprachverlusts mit Darstellung der frontalen Beteiligung. Die Abbildung zeigt die Korrelation der Demyelinisierungslokalisierung mit der klinischen Schwere der Aspekte des Sprachverlusts der 122 DL-Masken. Im Sagittalschnitt ist die frontale Beteiligung dargestellt. Das VLSM basiert auf der 5%-FDR-Korrektur der Brunner-Munzel-Testung. Je signifikanter die Korrelation ausgeprägt ist, desto stärker ist die Rotfärbung des Areals.

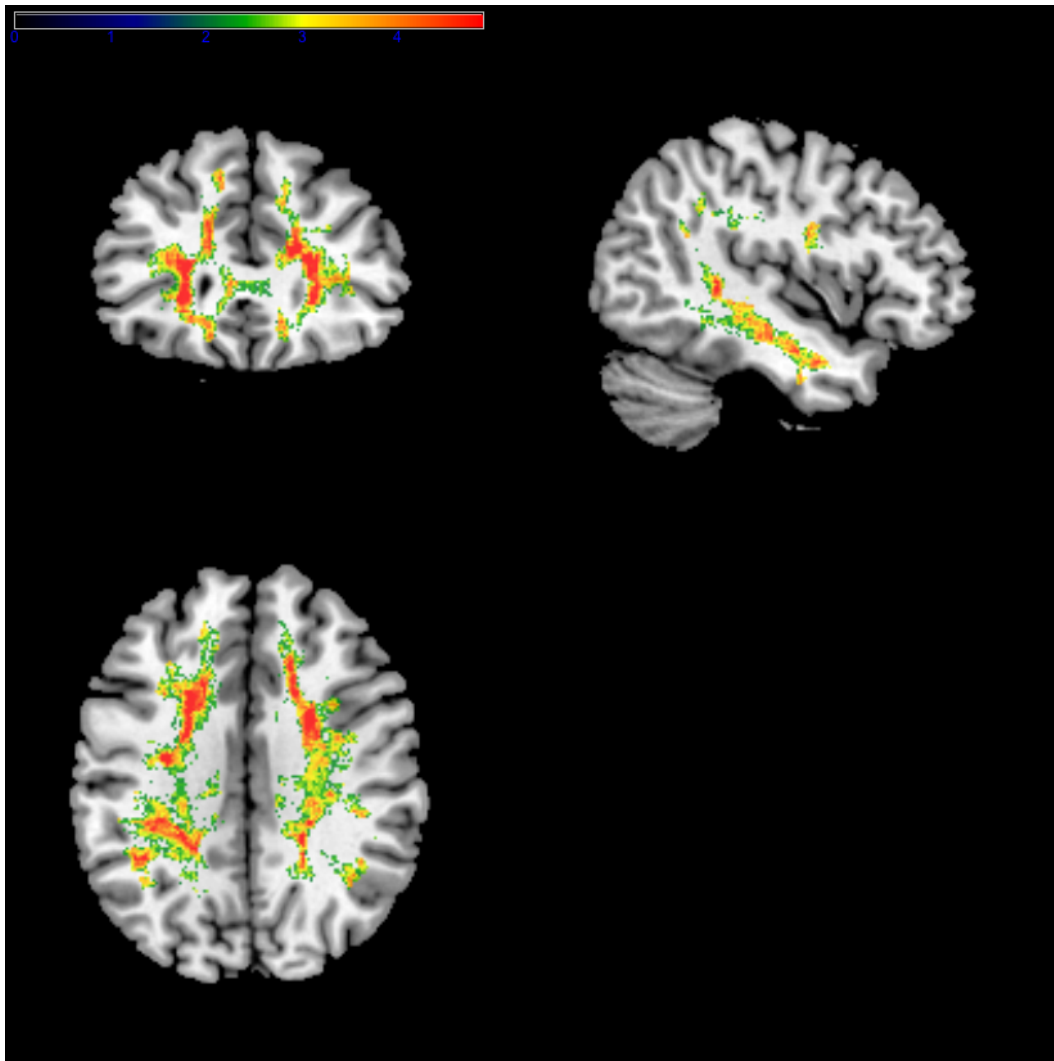


Abb. 24: Voxel-based lesion-symptom mapping der Aspekte des Sprachverlusts mit Darstellung der temporalen Beteiligung. Die Abbildung zeigt die Korrelation der Demyelinisierungslokalisation mit der klinischen Schwere der Aspekte des Sprachverlusts der 122 DL-Masken. Im Sagittalschnitt ist die temporale Beteiligung dargestellt. Das VLSM basiert auf der 5%-FDR-Korrektur der Brunner-Munzel-Testung. Je signifikanter die Korrelation ausgeprägt ist, desto stärker ist die Rotfärbung des Areals.

Die Abbildungen 23 und 24 zeigen das VLSM von demyelinisierter weißer Substanz und zunehmenden Sprachdefiziten. Die z-Scores waren besonders frontal am höchsten (s. Abb. 23). Auch parieto-okzipital und temporal wurden hohe Signifikanzniveaus erreicht (s. Abb. 24), die Zentralregion blieb dagegen eher ausgespart. Dies konnte in der Analyse der Permutation-Korrektur wiedergefunden werden.

3.2.3 GMFC-MLD-Score

Wie Tabelle 16 zu entnehmen ist, wurde die Korrelation von Demyelination Load-Lokalisation und GMFC-MLD-Score in Abbildung 20 aus 125 Masken von 44 Patienten erstellt.

Tab. 16: Statistische Kenngrößen der VLSM (GMFC-MLD-Score). Die Tabelle enthält die Ergebnisse der Korrekturen. Signifikanzniveau: $p < 0,05$.

Maskenanzahl / Patienten	Betroffene Bilder / Voxel	z-Score nach FDR-Korrektur	z-Score nach Permutation-Korrektur
125 / 44	mind. 12 / 240106	1.87449312	5.25085974

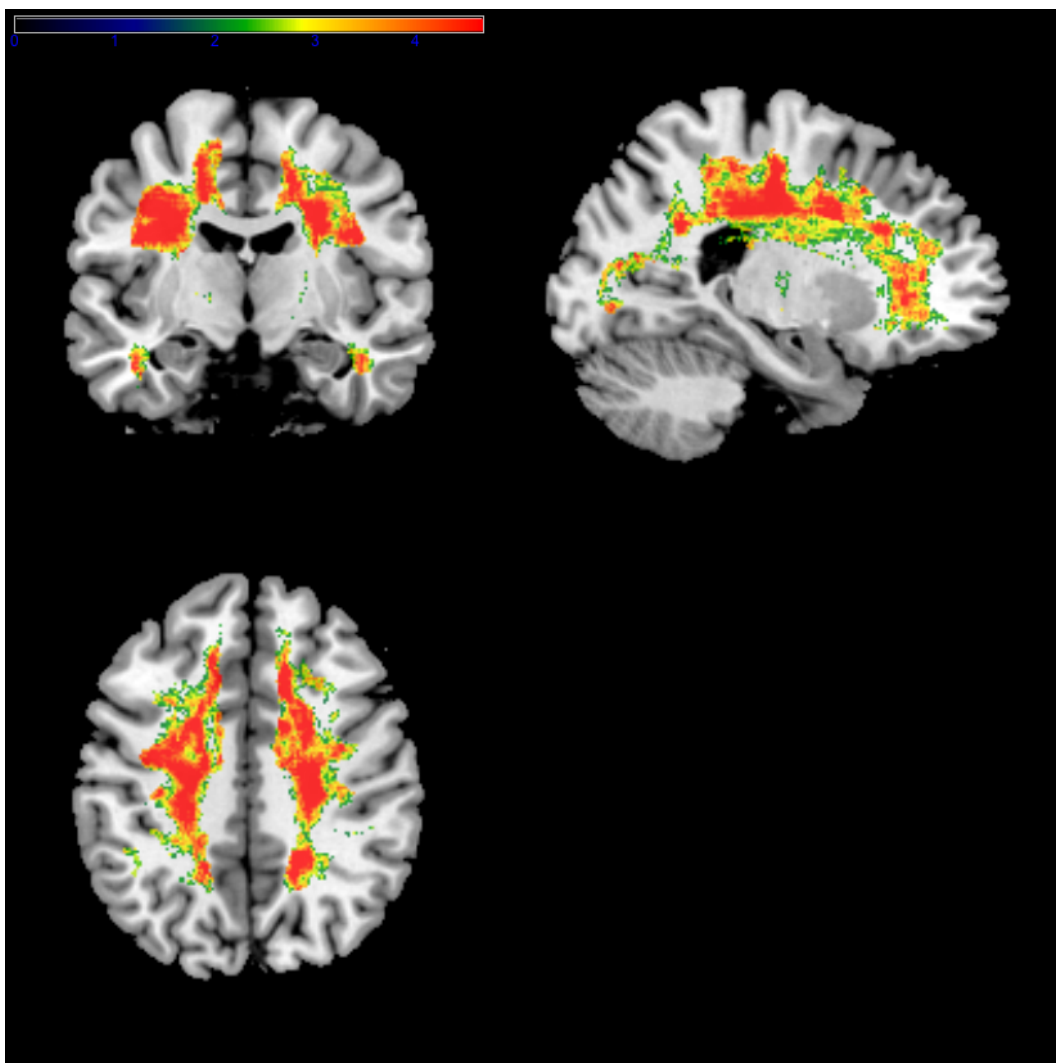


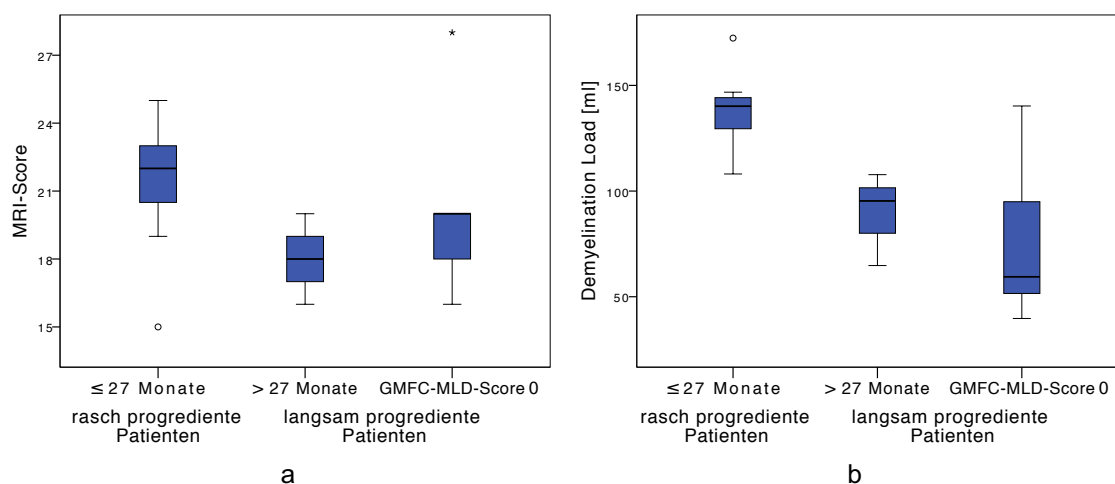
Abb. 25: Voxel-based lesion-symptom mapping des GMFC-MLD-Scores. Die Abbildung zeigt die Korrelation der Demyelinisierungslokalisierung mit den steigenden GMFC-MLD-Werten der 125 DL-Masken. Das VLSM basiert auf der 5%-FDR-Korrektur der Brunner-Munzel-Testung. Je signifikanter die Korrelation ausgeprägt ist, desto stärker ist die Rotfärbung des Areals. Abbildung 25 wurde bereits publiziert (s. Strölin et al. 2017).

Mit der motorischen Symptomatik korrelierende Demyelination Load-Areale sind in Abbildung 25 farblich hervorgehoben. Neben der relativ globalen Verteilung der Läsionen waren besonders die hohen z-Scores der (Peri-)Zentralregion auffällig (s. auch Strölin et al. 2017). Auch frontal und temporal war eine Korrelation zu erkennen. Im Gegensatz dazu war das Signal partieto-okzipital und im Corpus callosum weniger kräftig ausgebildet. Der Eindruck einer Korrelation des GMFC-MLD-Scores besonders mit dem Marklager der Zentralregion bestätigte sich durch die Permutation-Korrektur.

3.3 Prognostische Aussagekraft der MRT-Parameter für den natürlichen Krankheitsverlauf

3.3.1 MRT-Parameter (bei Diagnosestellung)

Insgesamt erfüllten 15 nicht-transplantierte Patienten die beschriebenen Einschlusskriterien. 7 Patienten wurden der Gruppe „≤27 Monate“ zugeteilt und somit als „rasch progredient“ definiert. 3 Patienten wurden der Gruppe „>27 Monate“ und 5 Patienten der Gruppe „GMFC-MLD-Score 0“ zugeteilt. Diese beiden Gruppen wurden zu 8 „langsam progredienten“ Patienten zusammengefasst.



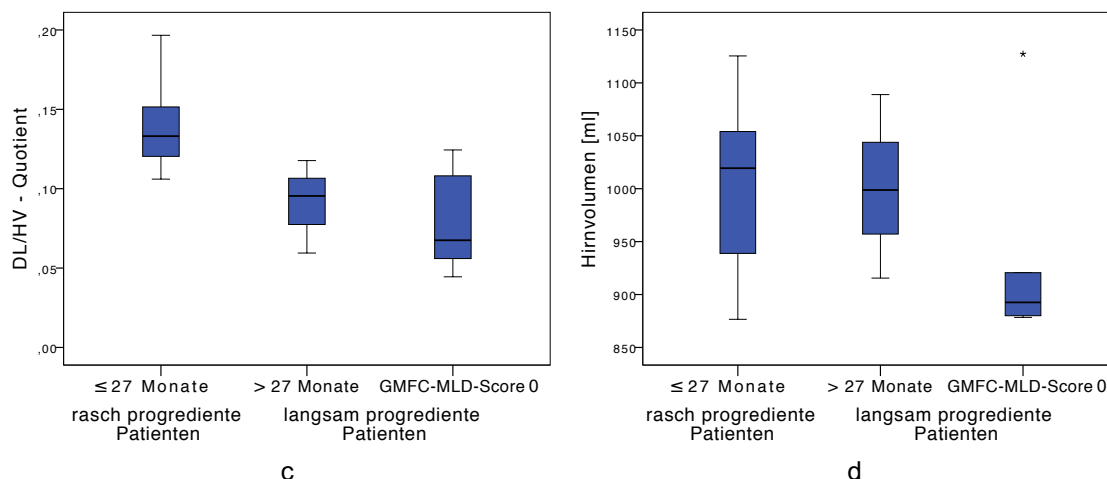


Abb. 26: Unterschied der MRT-Parameter zum frühen MRT-Zeitpunkt bei Patienten mit unterschiedlich schwerem natürlichem Krankheitsverlauf. In den Boxplots a-d sind die 15 Patienten in die Gruppen „≤27 Monate“, „>27 Monate“ und „GMFC-MLD-Score 0“ eingeteilt. Die Unterschiede der beiden Gruppen beziehen sich jeweils auf das erste MRT-Messergebnis für a) den MRI-Score, b) den Demyelination Load (DL) in Millilitern (ml), c) den Quotienten aus Demyelination Load und Hirnvolumen (DL/HV-Quotient) und d) das Hirnvolumen in Millilitern (ml).

In Abbildung 26 sind die nahe zum Diagnosezeitpunkt gemessenen MRT-Parameter nach der Schwere des natürlichen Krankheitsverlaufes aufgetragen.

Der MWU-Test zeigte, dass langsam progrediente Patienten signifikant niedrigere Werte für den Demyelination Load ($\Delta=-56,6\text{ml}$; $p=0,002$) und den Quotienten aus Demyelination Load und Hirnvolumen ($\Delta=-0,056$; $p=0,003$) als die rasch progredienten Patienten aufwiesen (s. auch Strölin et al. 2016, Strölin et al. 2017). Dabei verliefen die Krankheitsverläufe ab einem $\text{DL}=108,1\text{ml}$ bis auf eine Ausnahme rasch progredient. Im MRI-Score ($\Delta=-1,8$; $p=0,12$) und Hirnvolumen ($\Delta=-38,3\text{ml}$; $p=0,23$) war kein signifikanter Unterschied zu finden.

Tab. 17: Mittelwerte der MRT-Parameter bei Patienten unterschiedlichem Krankheitsprogress. Die Tabelle gibt die Mittelwerte und Standardabweichungen der Parameter MRI-Score, Demyelination Load in Millilitern (ml), dem Quotienten aus Demyelination Load und Hirnvolumen und Hirnvolumen in Millilitern (ml) getrennt nach Schwere des natürlichen Krankheitsverlaufes zum Zeitpunkt des ersten MRT-Bildes an. Zusätzlich sind die Ergebnisse des MWU-Tests angegeben. Signifikanzniveau: $p<0,05$.

MRT-Parameter bei Diagnosestellung	rasch progredient	langsam progredient	Signifikanz
MRI-Score	21,3 ($\pm 3,35$)	19,5 ($\pm 3,82$)	$p=0,12$
Demyelination Load ml	138,3 ($\pm 20,21$)	81,7 ($\pm 33,65$)	$p=0,002$
DL/HV-Quotient	0,140 ($\pm 0,030$)	0,084 ($\pm 0,031$)	$p=0,003$
Hirnvolumen ml	1001,0 ($\pm 86,28$)	962,8 ($\pm 97,97$)	$p=0,23$

Die Untersuchung des zeitlichen Abstandes von erstem MRT-Bild und Ausbruch der MLD-Symptomatik ergab mithilfe des MWU-Tests, dass die MRT-Bilder der rasch progredienten Patienten ($1,2 \pm 0,98$ Jahre) im Mittel 2,9 Jahre eher nach Symptom-Onset entstanden, als die der langsam progredienten Patienten ($4,1 \pm 3,47$ Jahre; zweiseitige Signifikanz: $p=0,03$) (s. auch Strölin et al. 2017).

3.3.2 Lokalisation des Demyelination Loads (bei Diagnosestellung)

Es wurden 15 Demyelination Load-Masken der Patienten mit frühem MRT-Bild in das VLSM der unterschiedlich schweren Krankheitsverläufe einbezogen (siehe Tabelle 18). 7 Patienten wurden den „rasch progredienten“ und 8 den „langsam progredienten“ Patienten zugeteilt.

Tab. 18: Statistische Kenngrößen der VLSM (Schwere des natürlichen Krankheitsverlaufs). Die Tabelle enthält die Ergebnisse der Korrekturen. Signifikanzniveau: $p<0,05$.

Maskenanzahl / Patienten	Betroffene Bilder / Voxel	z-Score nach FDR-Korrektur	z-Score nach Permutation-Korrektur
15 / 15	mind. 2 / 321996	2.74746680	3.93768740

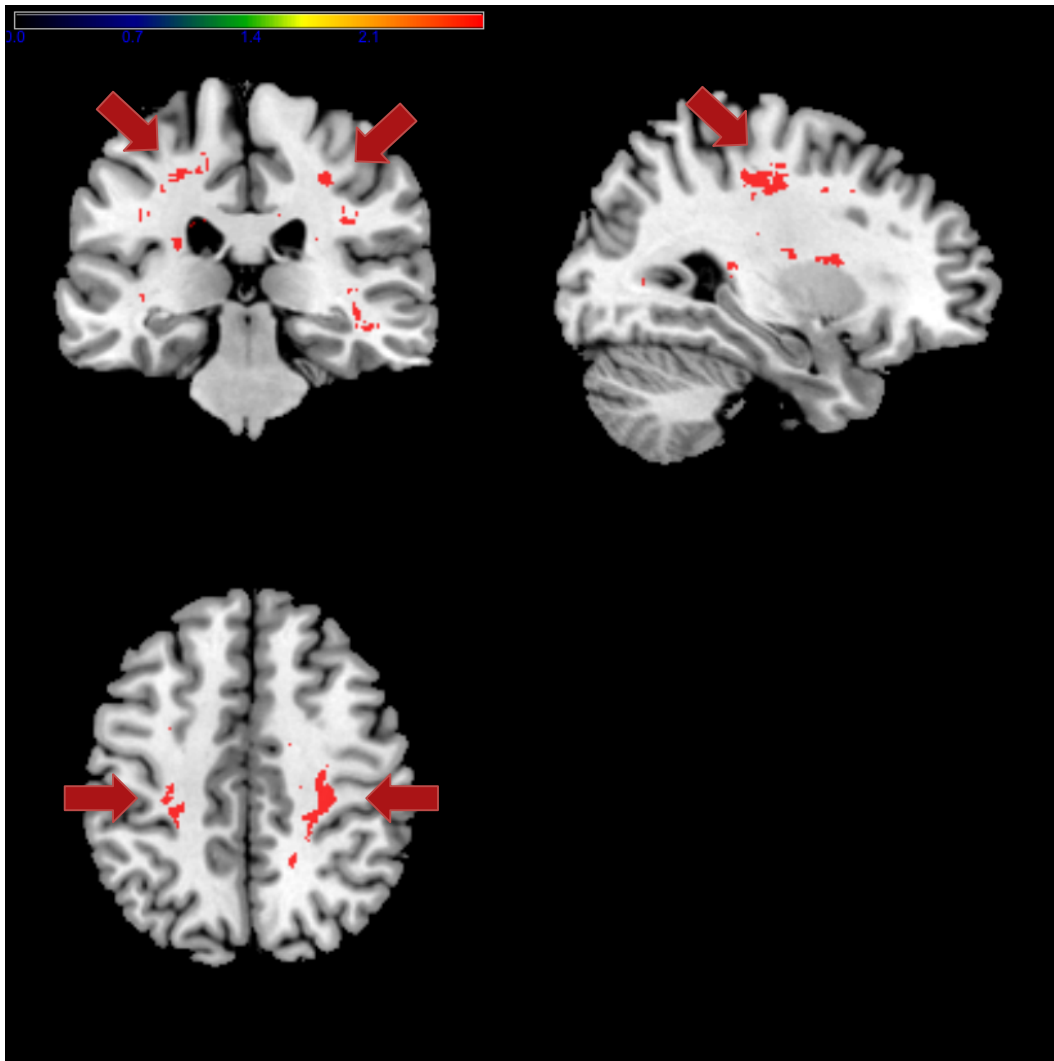


Abb. 27: Voxel-based lesion-symptom mapping des natürlichen Krankheitsverlaufs. Die Abbildung zeigt die Korrelation der Demyelinierungslokalisation mit der Schwere des natürlichen Krankheitsverlaufes der 15 Patienten. Das VLSM basiert auf der 5%-FDR-Korrektur der Liebermeister-Testung. Je signifikanter die Korrelation ausgeprägt ist, desto stärker ist die Rotfärbung des Areals. Abbildung 27 wurde bereits publiziert (s. Strölin et al. 2017)

In Abbildung 27 ist der Zusammenhang von Demyelination Load-Lokalisation bei Diagnosestellung und der Schwere des weiteren natürlichen Verlaufes dargestellt.

Besonders die sagittale und axiale Ansicht des VLSM konnten die starke Assoziation zwischen betroffener Zentralregion und dem schnellverlaufenden (≤ 27 Monate) Krankheitsprogress darstellen. Noch deutlicher konnte unter Permutation-Korrektur beobachtet werden, dass besonders in Richtung der subkortikalen U-Fasern der Zentralregion ziehende Hirnreale hohe Signifikanzwerte erreichten (s. auch Strölin et al. 2017).

Es konnte hingegen keine Korrelation mit frontalen Hirnregionen festgestellt werden; auch parieto-okzipitale Areale wiesen keine relevanten z-Scores auf.

3.4 MRT-Parameter im Krankheitsverlauf mit und ohne Stammzelltransplantation

Die Dynamik der MRT-Parameter von 46 Patienten mit und ohne Stammzelltransplantation ist in den folgenden Abbildungen dargestellt. Dabei wurde die Entwicklung der individuellen Hirnveränderungen der 11 transplantierten Patienten anhand von 68 MRT-Aufnahmen in Verläufen dargestellt. Als Referenzdaten für den natürlichen Krankheitsverlauf diente das jeweils letzte Bild der 35 nicht-transplantierten Patienten (Querschnittsdaten). Somit wurden hier 103 MRT-Bilder berücksichtigt.

3.4.1 MRT-Parameter in Bezug zum Alter

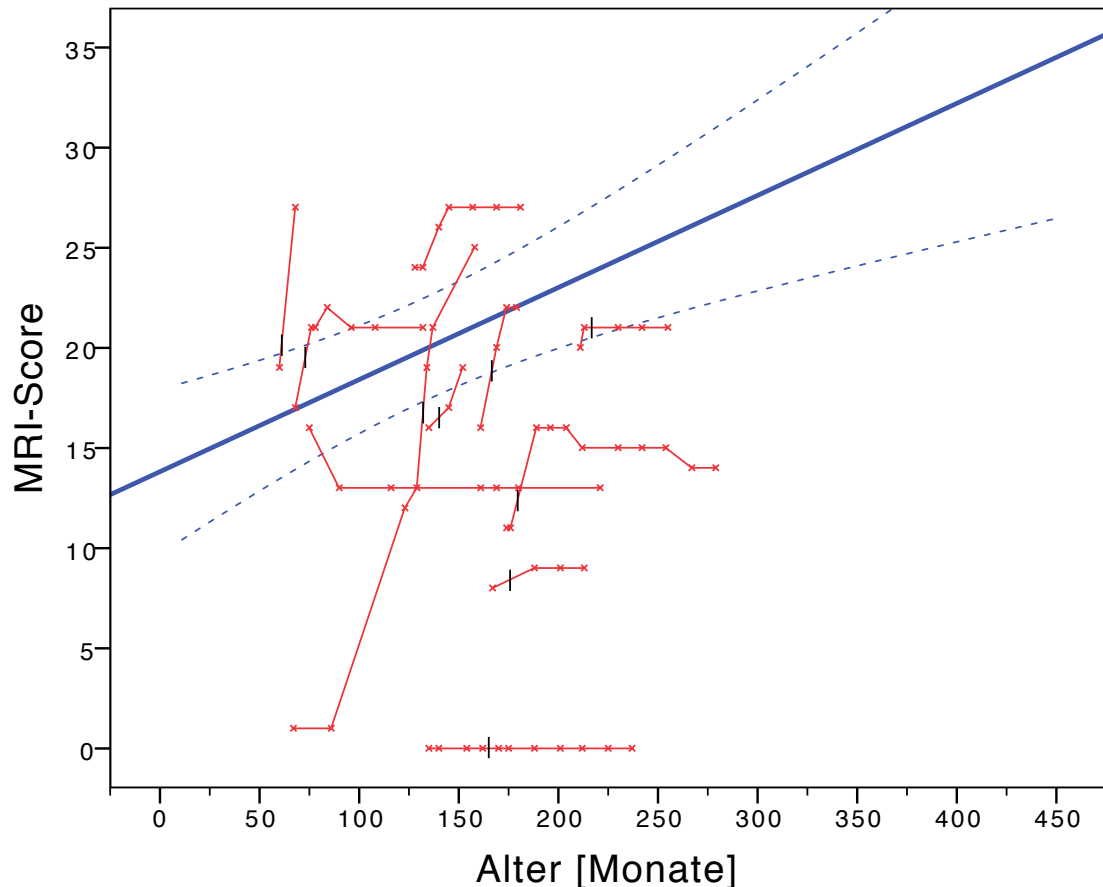


Abb. 28: Langzeitverläufe der MRI-Scores. In Rot sind die MRI-Score-Ergebnisse der 11 transplantierten Patienten zum jeweiligen Alter in Monaten eingetragen. Der schwarze Balken markiert den Zeitpunkt der HSZT. Verbundene Punkte kennzeichnen Verläufe. 2 Transplantierte haben keine Aufnahme vor Therapiebeginn. In Blau ist die Regressionsgerade mit der Gleichung $y = 13,82 + 0,05 * x$ (mit 95%-Vertrauensintervall der Mittelwerte) der 35 nicht-transplantierten Patienten anhand der letzten MRT-Untersuchung dargestellt.

Abbildung 28 zeigt die Entwicklung der MRI-Scores mit zunehmendem Patientenalter. In der Mehrzahl verbesserten oder stabilisierten sich die MRI-Scores der behandelten Patienten im Verlauf. Dies trat teilweise erst nach einer Latenz von 10-15 Monaten auf. Bei 4 transplantierten Patienten war zum Beobachtungsschluss noch keine Tendenz zur Stabilisierung des MRI-Scores zu erkennen.

Im Gegensatz zu den transplantierten Patienten stiegen die MRI-Scores der nicht-transplantierten Patienten im Verlauf weiter an, nur wenige Patienten zeigten eine Stabilisierung und kein nicht-transplantiertes Patient verbesserte sei-

nen MRI-Score (s. Anhang Abb. 42). Der Anstieg der MRI-Scores mit fortschreitendem Patientenalter ist ebenfalls an der positiven Steigung der Regressionsgerade ($m=0,05$) zu erkennen.

Zum Ende der Beobachtung befanden sich 5 Transplantierte unterhalb, 3 innerhalb und 3 oberhalb des 95%-Vertrauensintervalls der Mittelwerte der nicht-transplantierten Patienten.

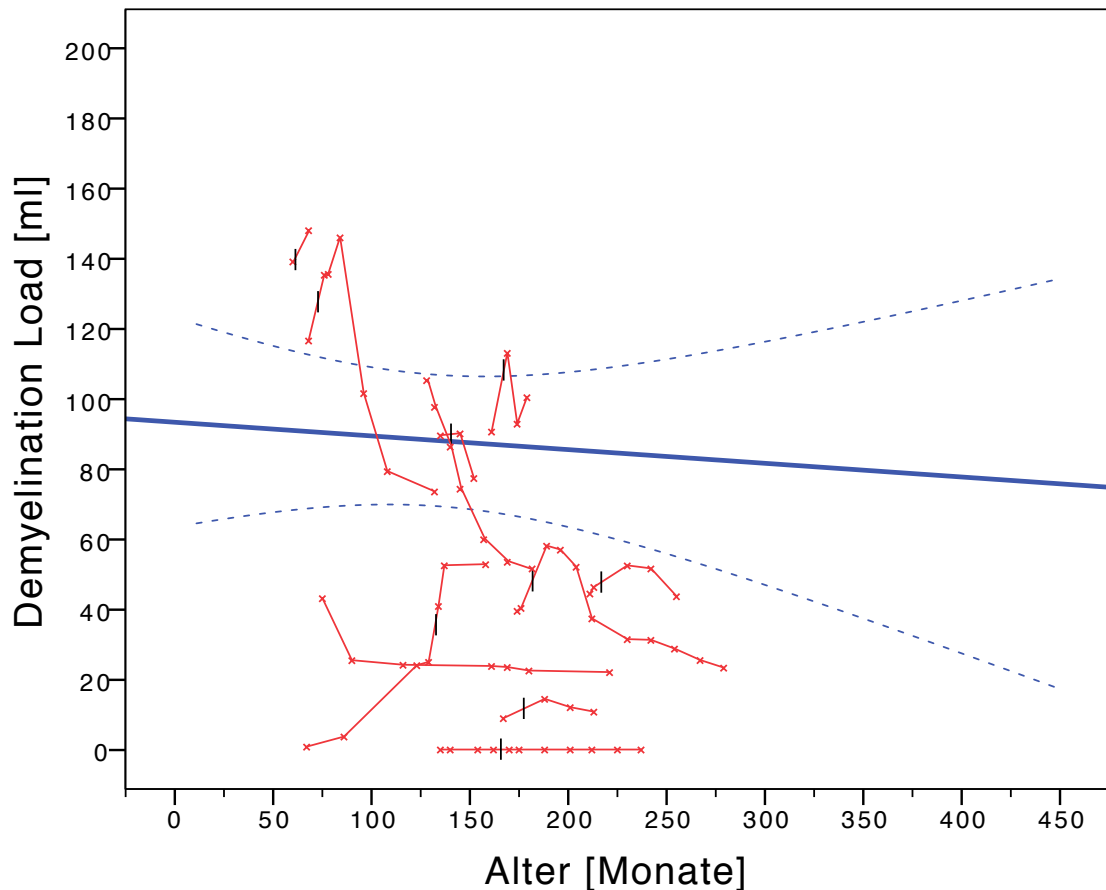


Abb. 29: Langzeitverläufe des Demyelination Loads. In Rot sind DL-Ergebnisse der 11 transplantierten Patienten zum jeweiligen Alter in Monaten eingetragen. Der schwarze Balken markiert den Zeitpunkt der HSZT. Verbundene Punkte kennzeichnen Verläufe. 2 Transplantierte haben keine Aufnahme vor Therapiebeginn. In Blau ist die Regressionsgerade mit der Gleichung $y = 93,42 - 0,04 * x$ (mit 95%-Vertrauensintervall der Mittelwerte) der 35 nicht-transplantierten Patienten anhand der letzten MRT-Untersuchung dargestellt.

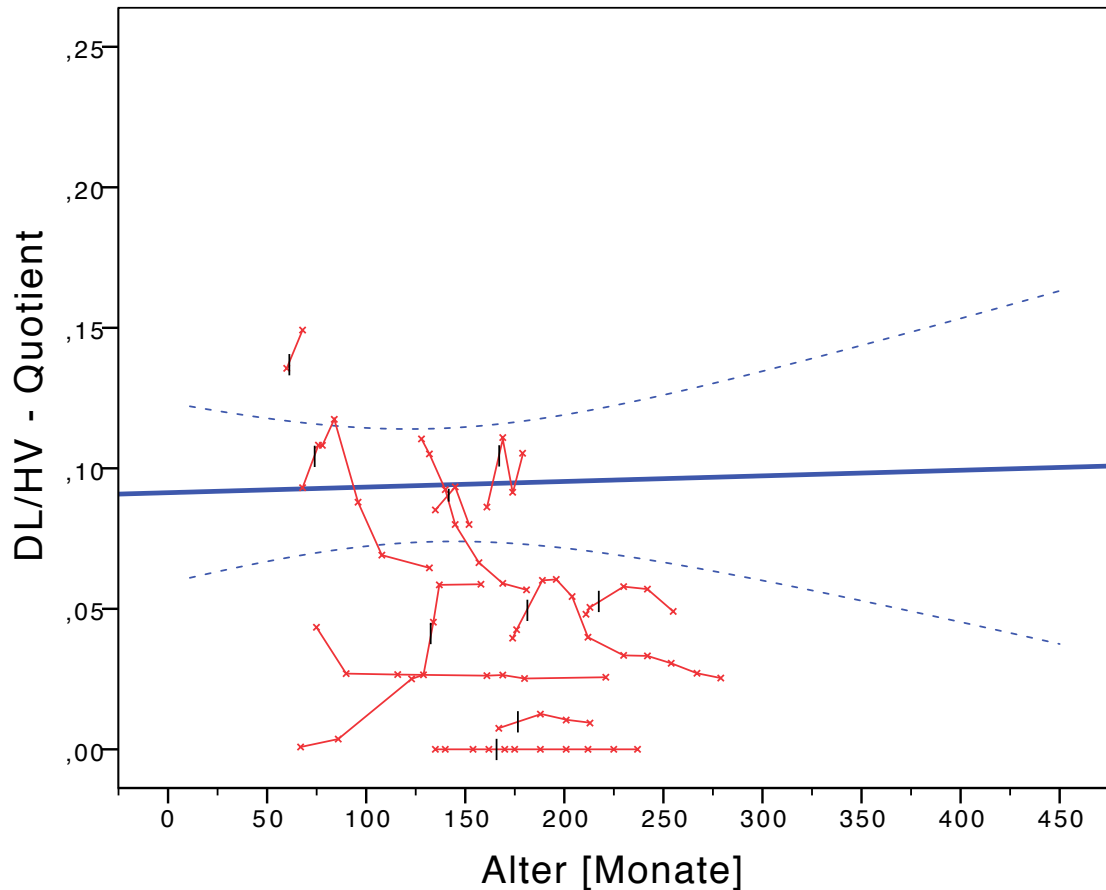


Abb. 30: Langzeitverläufe des korrigierten Demyelination Loads. Der DL wird auf das jeweilige Hirnvolumen der Patienten zum selben Zeitpunkt bezogen. Dazu wird der Quotient DL/HV gebildet. In Rot sind Ergebnisse der 11 transplantierten Patienten zum jeweiligen Alter in Monaten eingetragen. Der schwarze Balken markiert den Zeitpunkt der HSZT. Verbundene Punkte kennzeichnen Verläufe. 2 Transplantierte haben keine Aufnahme vor Therapiebeginn. In Blau ist die Regressionsgerade mit der Gleichung $y = 0,09 + 2 * 10^{-5} * x$ (mit 95%-Vertrauensintervall der Mittelwerte) der 35 nicht-transplantierten Patienten anhand der letzten MRT-Untersuchung dargestellt.

In Abbildung 29 ist die Entwicklung des Demyelination Loads mit dem Krankheitsfortschritt dargestellt. Bei 7 transplantierten MLD-Patienten war der Demyelination Load im Verlauf von 6 bis 24 Monaten nach der Stammzelltransplantation das erste Mal rückläufig oder stabil. Bei 3 Patienten war der Demyelination Load-Wert vor der Transplantation deutlich niedriger als am letzten Messzeitpunkt.

Bei 6 von 8 transplantierten Patienten, deren Demyelination Load-Wert sich insgesamt verbesserte oder stagnierte, war unmittelbar nach der Transplantation ein Anstieg des Parameters zu erkennen. Erst im weiteren Verlauf (5-15

Monate) konnte ein positiver Effekt beobachtet werden. Bei 2 Patienten mit ebenfalls sinkenden Demyelination Load-Werten konnte aufgrund der fehlenden prätherapeutischen MRT-Aufnahmen keine Aussage über den Beginn der Verbesserung getroffen werden.

Die Mehrzahl der nicht-transplantierten Patienten wiesen ansteigende Demyelination Load-Werte auf, allerdings zeigten viele mit der Zeit auch eine Abnahme des Demyelination Loads (s. Anhang Abb. 43). Bei den sehr hohen Demyelination Load-Werten (ab 100-120ml) waren verstärkt Patienten ohne Stammzelltransplantation zu finden. Insgesamt zeigte die negative Steigung der Geraden ($m=-0,04$) für die nicht-transplantierten Patienten einen leicht abnehmenden Demyelination Load bei zunehmendem Alter an.

Nach der letzten MRT-Aufnahme waren 7 transplantierte Patienten unterhalb und einer oberhalb des Vertrauensintervalls der Demyelination Load-Mittelwerte der Vergleichskohorte. Von den 3 Patienten die sich innerhalb des Intervalls befanden, zeigten 2 deutliche Tendenzen der Verbesserung des Demyelination Loads.

Abbildung 30 gibt die Entwicklung des Quotienten aus Demyelination Load und Hirnvolumen wieder. Die Dynamik der Transplantierten-Verläufe gleicht dabei der Darstellung in Abbildung 29.

Nicht-transplantierte Patienten zeigten eindeutig schlechtere Verläufe, mit häufig höheren und langsamer abnehmenden Werten (s. Anhang Abb. 44). Ab einem Quotienten von 0,1 wurden nahezu ausschließlich nicht-transplantierte Patienten gefunden.

Die positive Steigung der Regressionsgerade ($m=2*10^{-5}$) war zwar schwach ausgeprägt, belegt aber, dass die Werte im Gegensatz zu denen der transplantierten Patienten nicht stark abfielen. Dabei wiesen 8 transplantierte Patienten niedrigere und 1 Patient höhere Werte für den DL/HV-Quotienten als das Vertrauensintervall der Referenzkohorte auf.

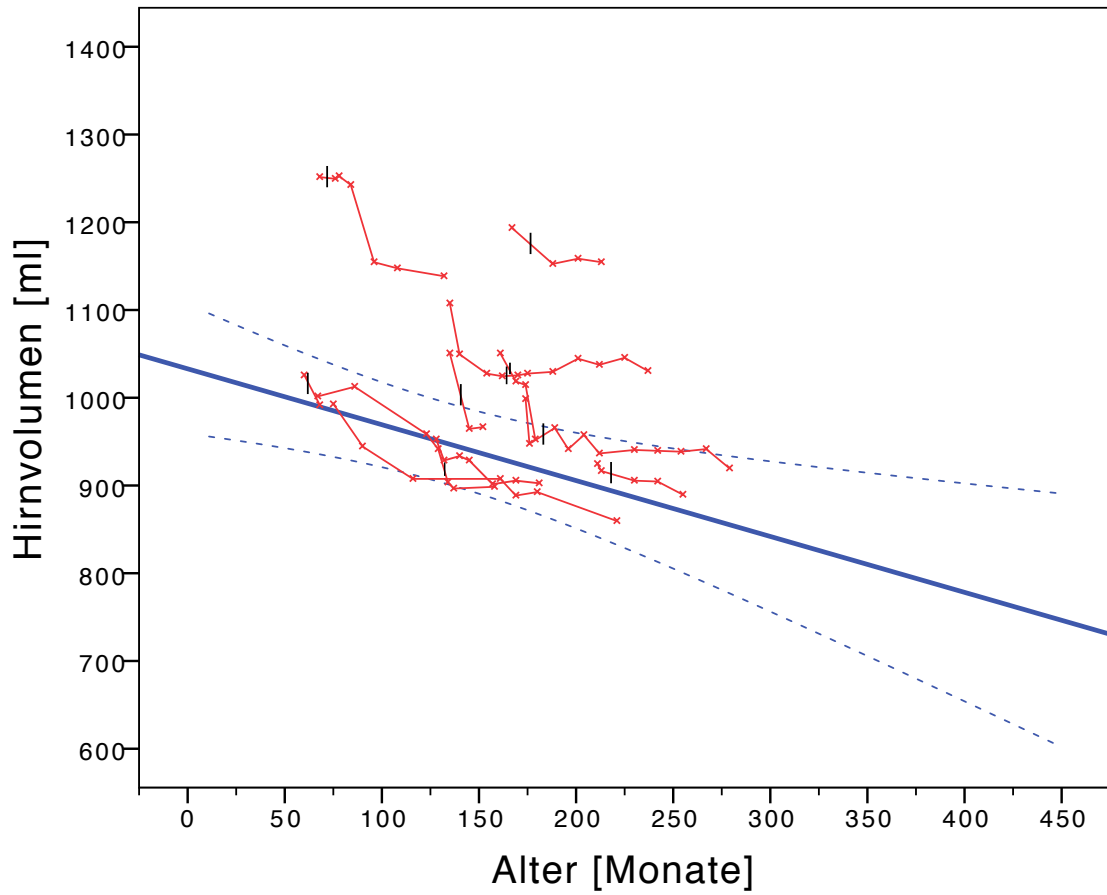


Abb. 31: Langzeitverläufe des Hirnvolumens. In Rot sind HV-Ergebnisse der 11 transplantierten Patienten zum jeweiligen Alter in Monaten eingetragen. Der schwarze Balken markiert den Zeitpunkt der HSZT. Verbundene Punkte kennzeichnen Verläufe. 2 Transplantierte haben keine Aufnahme vor Therapiebeginn. In Blau ist die Regressionsgerade mit der Gleichung $y = 1030 - 0,64 * x$ (mit 95%-Vertrauensintervall der Mittelwerte) der 35 nicht-transplantierten Patienten anhand der letzten MRT-Untersuchung dargestellt.

In Abbildung 31 ist die Entwicklung des Hirnvolumens mit der Zeit dargestellt. Bei allen Patienten war eine Abnahme des Volumens mit der Zeit zu beobachten (siehe Abb. 31). Bei einigen transplantierten Patienten konnte das sinkende Hirnvolumen nach der Transplantation für einige Zeit (10 Monate bis zu 5 Jahre) stabilisiert werden.

Die Gruppe der nicht-transplantierten Patienten zeigte allgemein niedrigere und schneller abfallende Hirnvolumina (s. Anhang Abb. 45); bis auf 3 Patienten befanden sich aber alle transplantierten Patienten innerhalb des Vertrauensintervalls der Mittelwerte für das Hirnvolumen.

3.4.2 MRT-Parameter in Bezug zur Zeit nach Erstersymptomatik

Da 2 nicht-transplantierte Kinder zum MRT-Zeitpunkt präsymptomatisch waren, sind hier nur 33 der 35 nicht-transplantierten Patienten einbezogen. Bei 3 noch präsymptomatischen, aber transplantierten Patienten wurde der Zeitpunkt der Stammzelltransplantation als $t=0$ verwendet.

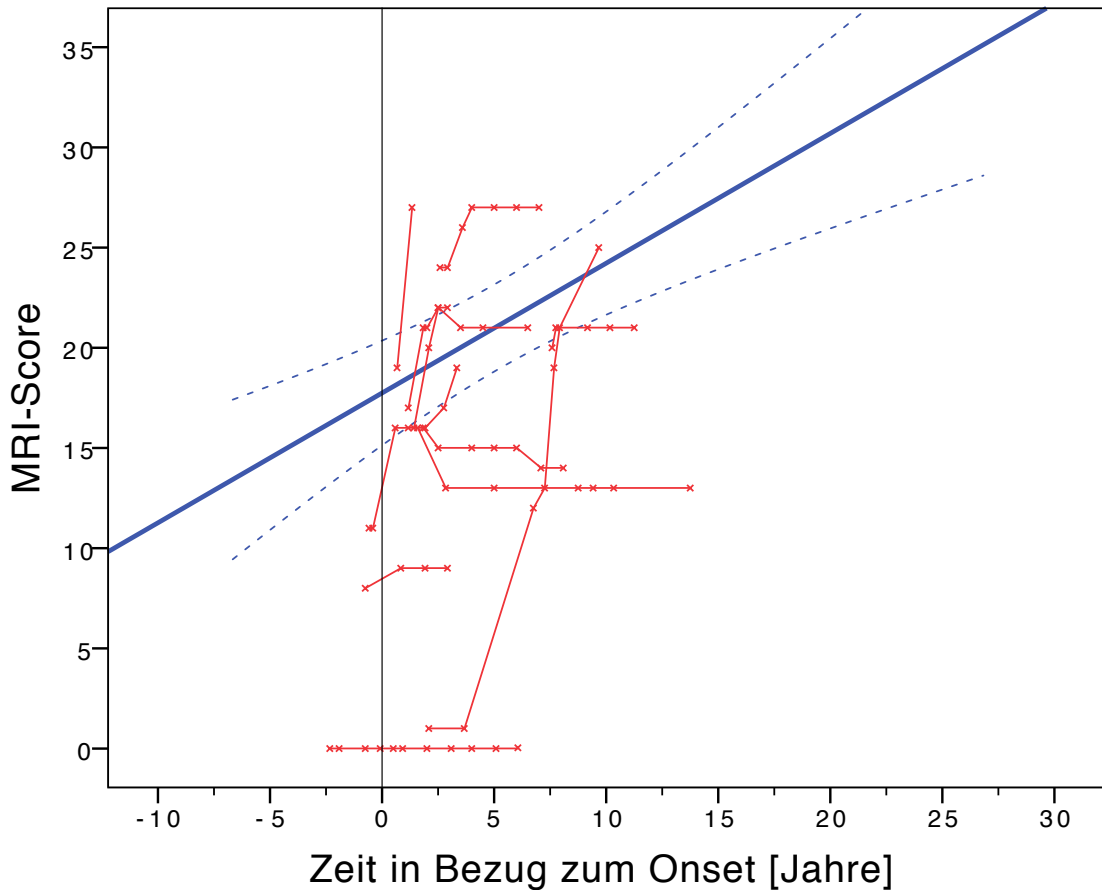


Abb. 32: Verläufe der MRI-Scores in Bezug zum Krankheits-Onset. In Rot sind die MRI-Score-Ergebnisse der 11 transplantierten Patienten zum jeweiligen Krankheits-Onset bzw. zur Stammzelltransplantation eingetragen. Verbundene Punkte kennzeichnen Verläufe. In Blau ist die Regressionsgerade mit der Gleichung $y = 17,74 + 0,65 * x$ (mit 95%-Vertrauensintervall der Mittelwerte) der 35 nicht-transplantierten Patienten anhand der letzten MRT-Untersuchung dargestellt. Der Krankheits-Onset ist durch die schwarze Gerade bei 0 Jahren gekennzeichnet.

Die Abbildung 32 zeigt die Entwicklung der MRI-Scores in Bezug zum Beginn der Krankheitssymptome. Im näheren Zeitraum um den Onset fiel in beiden Patientengruppen ein starker Anstieg des MRI-Scores auf. Im Anschluss an diese Phase stabilisierten sich die meisten transplantierten Patienten 2,5 bis 5 Jahre nach dem Ausbruch der Krankheit. Die nicht-transplantierten Patienten zeigten überwiegend einen weiteren Anstieg der Werte (s. Anhang Abb. 46).

Nach Abschluss der Beobachtung befanden sich 5 Transplantierte unterhalb, 3 innerhalb und 3 oberhalb des Vertrauensintervalls für die MRI-Score-Mittelwerte der nicht-transplantierten Kohorte.

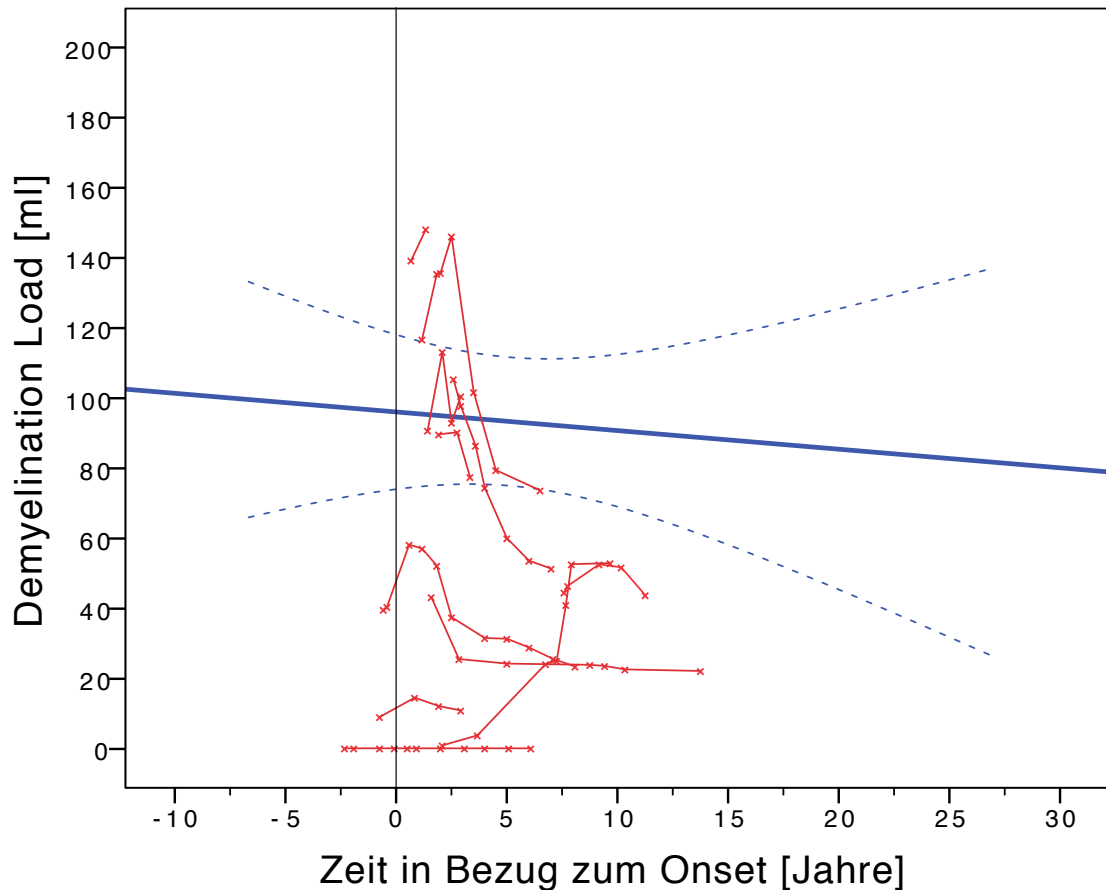


Abb. 33: Verläufe des Demyelination Loads in Bezug zum Krankheits-Onset. In Rot sind DL-Ergebnisse der 11 transplantierten Patienten zum jeweiligen Krankheits-Onset bzw. zur Stammzelltransplantation eingetragen. Verbundene Punkte kennzeichnen Verläufe. In Blau ist die Regressionsgerade mit der Gleichung $y = 96,09 - 0,53 * x$ (mit 95%-Vertrauensintervall der Mittelwerte) der 35 nicht-transplantierten Patienten anhand der letzten MRT-Untersuchung dargestellt. Der Krankheits-Onset ist durch die schwarze Gerade bei 0 Jahren gekennzeichnet.

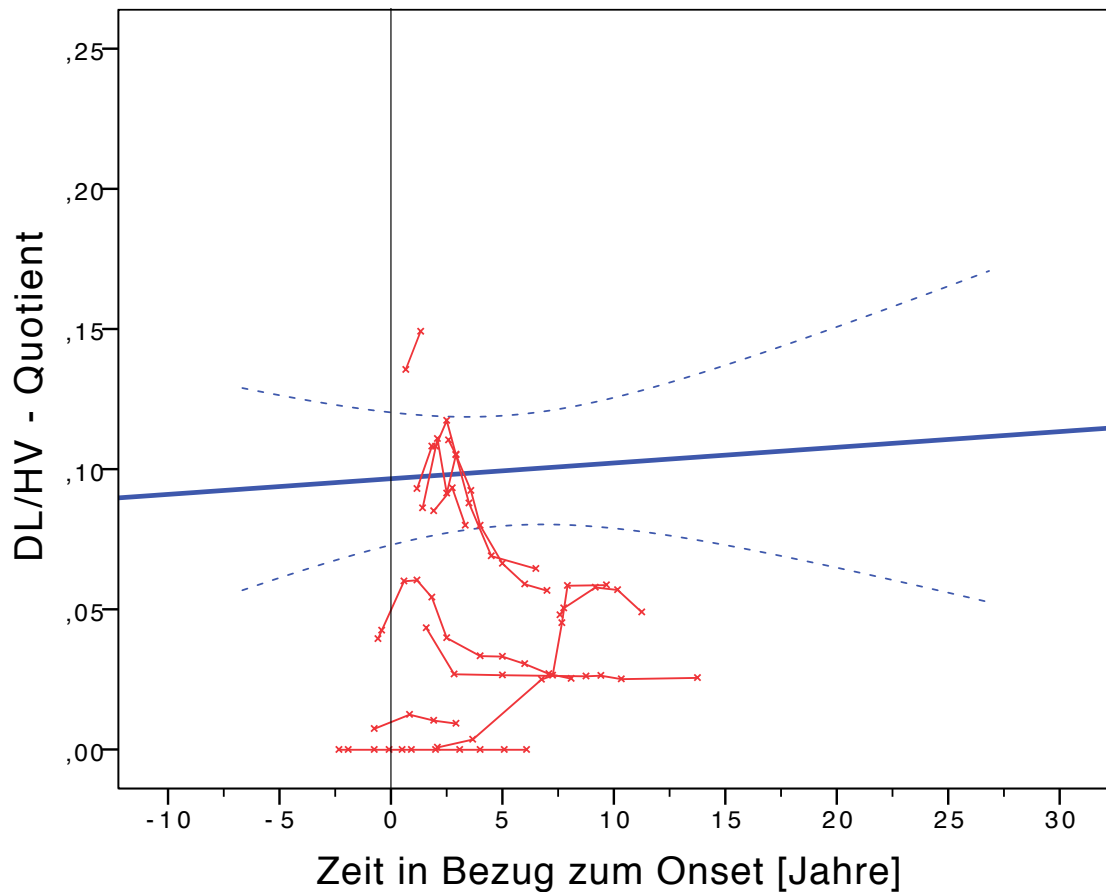


Abb. 34: Verläufe des korrigierten Demyelination Loads in Bezug zum Krankheits-Onset. Der DL wird auf das jeweilige Hirnvolumen der Patienten zum selben Zeitpunkt bezogen. Dazu wird der Quotient DL/HV gebildet. In Rot sind Ergebnisse der 11 transplantierten Patienten zum jeweiligen Krankheits-Onset bzw. zur Stammzelltransplantation eingetragen. Verbundene Punkte kennzeichnen Verläufe. In Blau ist die Regressionsgerade mit der Gleichung $y = 0,1 + 5,6 \cdot 10^{-4} \cdot x$ (mit 95%-Vertrauensintervall der Mittelwerte) der 35 nicht-transplantierten Patienten anhand der letzten MRT-Untersuchung dargestellt. Der Krankheits-Onset ist durch die schwarze Gerade bei 0 Jahren gekennzeichnet.

Abbildung 33 stellt die Veränderungen des Demyelination Loads in Bezug zum Zeitpunkt des Symptombeginns dar. Im Zeitintervall um den Onset stieg der Demyelination Load in beiden Gruppen zunächst an. Bei der Mehrzahl der transplantierten Patienten begann der Demyelination Load nach 1-2,5 Jahren stark abzunehmen. Die nicht-transplantierten Patienten zeigten eine Tendenz zur Abnahme des Demyelination Loads teilweise erst im Zeitraum von 3-10 Jahren nach Symptombeginn; zusätzlich ging der Rückgang weniger rasch vonstatten (s. Anhang Abb. 47). Dies konnte auch an der nur schwach negativen Steigung der Referenzkohorte abgelesen werden (siehe Abb. 33).

Nach dem Ende der Beobachtung hatten 8 von 11 transplantierten Patienten niedrigere und 1 Patient höhere Werte, als das Vertrauensintervall der Demyelination Load-Mittelwerte der natürlichen Verlaufskohorte.

Abbildung 34 zeigt die Entwicklung des Demyelination Loads, korrigiert durch das Hirnvolumen. Diese war bei den transplantierten Kindern vergleichbar zu Abbildung 33. Bei den nicht-transplantierten Patienten kam es in Einzelfällen auch 15 bzw. 27,5 Jahre nach Symptom-Onset zu keiner wesentlichen Abnahme des DL/HV-Quotienten unter die Ausgangswerte zu Beobachtungsbeginn (s. Anhang Abb. 48). Die Regressionsgerade der nicht-transplantierten Kohorte hatte dabei eine positive Steigung ($m=5,6 \cdot 10^{-4}$). 8 der 11 transplantierten Patienten wiesen für den DL/HV-Quotienten Werte unterhalb des Vertrauensintervalls der Mittelwerte der Referenzgruppe auf.

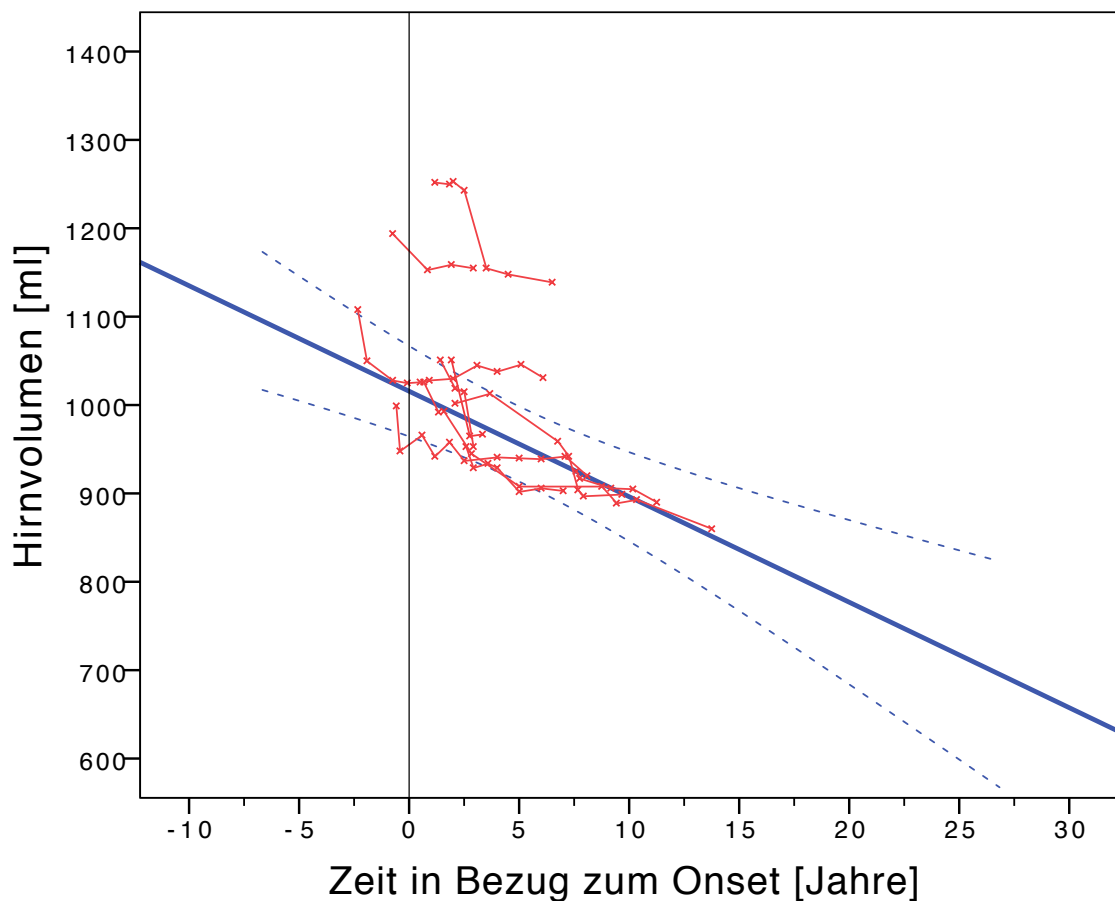


Abb. 35: Verläufe des Hirnvolumens in Bezug zum Krankheits-Onset. In Rot sind die HV-Ergebnisse der 11 transplantierten Patienten zum jeweiligen Krankheits-Onset bzw. zur Stammzelltransplantation eingetragen. Verbundene Punkte kennzeichnen Verläufe. In Blau ist die Regressionsgerade mit der Gleichung $y = 1020 - 11,94 \cdot x$ (mit 95%-Vertrauensintervall der Mittelwerte) der 35 nicht-transplantierten Patienten anhand der letzten MRT-Untersuchung dargestellt. Der Krankheits-Onset ist durch die schwarze Gerade bei 0 Jahren gekennzeichnet.

Wie in Abbildung 35 zu sehen ist, sank das Hirnvolumen in beiden Patientengruppen um den Zeitraum der ersten Symptomauftritte. In der Folgezeit konnten einzelne transplantierte Patienten ihre Hirnvolumenwerte für eine variable Dauer (2-5 Jahre) stabilisieren oder zumindest den Fortschritt der Volumenabnahme verlangsamen; bei anderen zeigte sich auch eine weitere Verschlechterung des Parameters. 3 von 11 transplantierten Patienten stabilisierten ihre Hirnvolumina oberhalb der Mittelwerte der nicht-transplantierten Kohorte.

Patienten ohne Stammzelltransplantation waren im Wesentlichen einer ungebremsten Hirnvolumenabnahme ausgesetzt (s. Anhang Abb. 49).

3.4.3 MRT-Parameter in Bezug zur Zeit nach Stammzelltransplantation

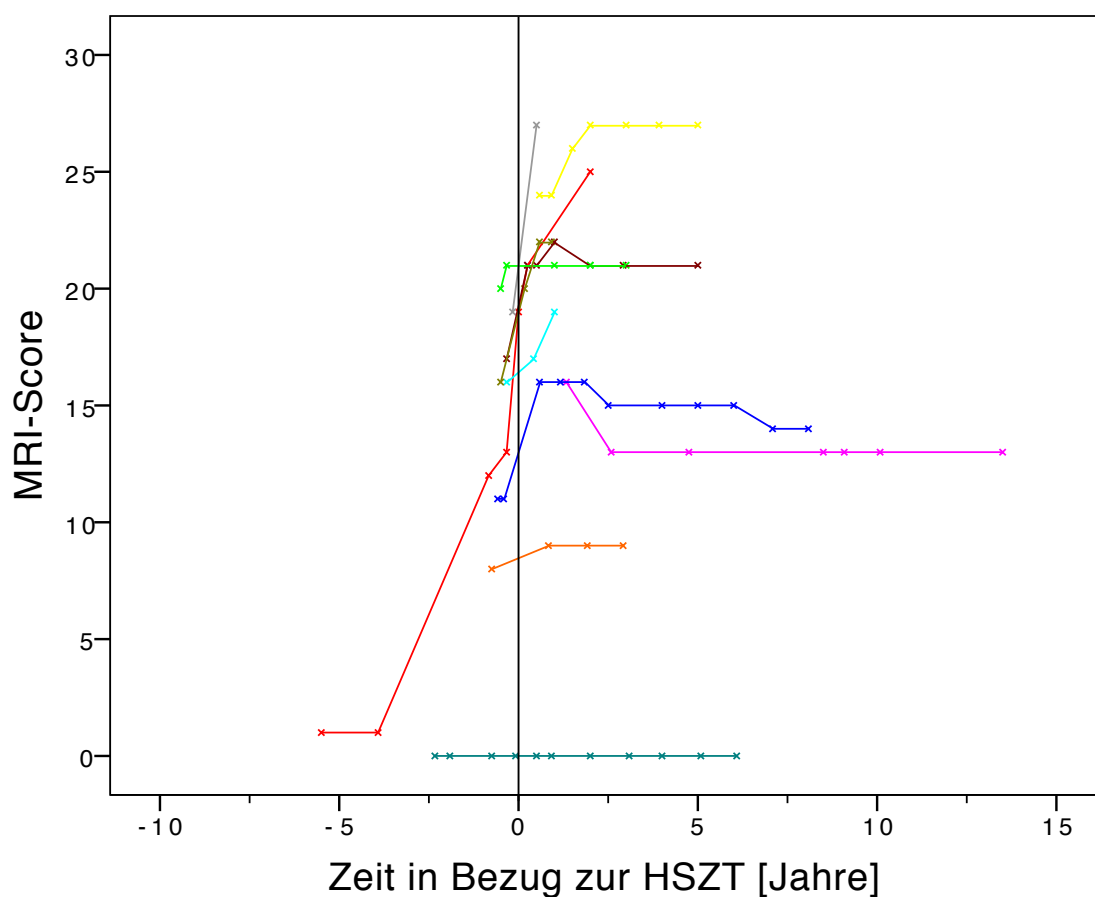


Abb. 36: MRI-Score-Entwicklung der transplantierten Patienten in Bezug zum Transplantationszeitpunkt. Die MRI-Score-Werte der 11 transplantierten Patienten sind in unterschiedlichen Farben im Verlauf der Zeit aufgetragen. In Schwarz ist der Zeitpunkt der Stammzelltransplantation gekennzeichnet, zu 2 Patienten gibt es keine Aufnahme vor der Transplantation.

Abbildung 36 gibt die individuellen Veränderungen des MRI-Scores der 11 transplantierten Patienten bezogen auf den Zeitpunkt der Stammzelltransplantation wieder. Bei fast allen Patienten stieg der MRI-Score nach der Transplantation zunächst weiter an. 1-2,5 Jahre nach der Transplantation stabilisierten oder verbesserten sich die Werte in der Regel, nur 3 Patienten wiesen einen zunehmenden Anstieg des Parameters auf.

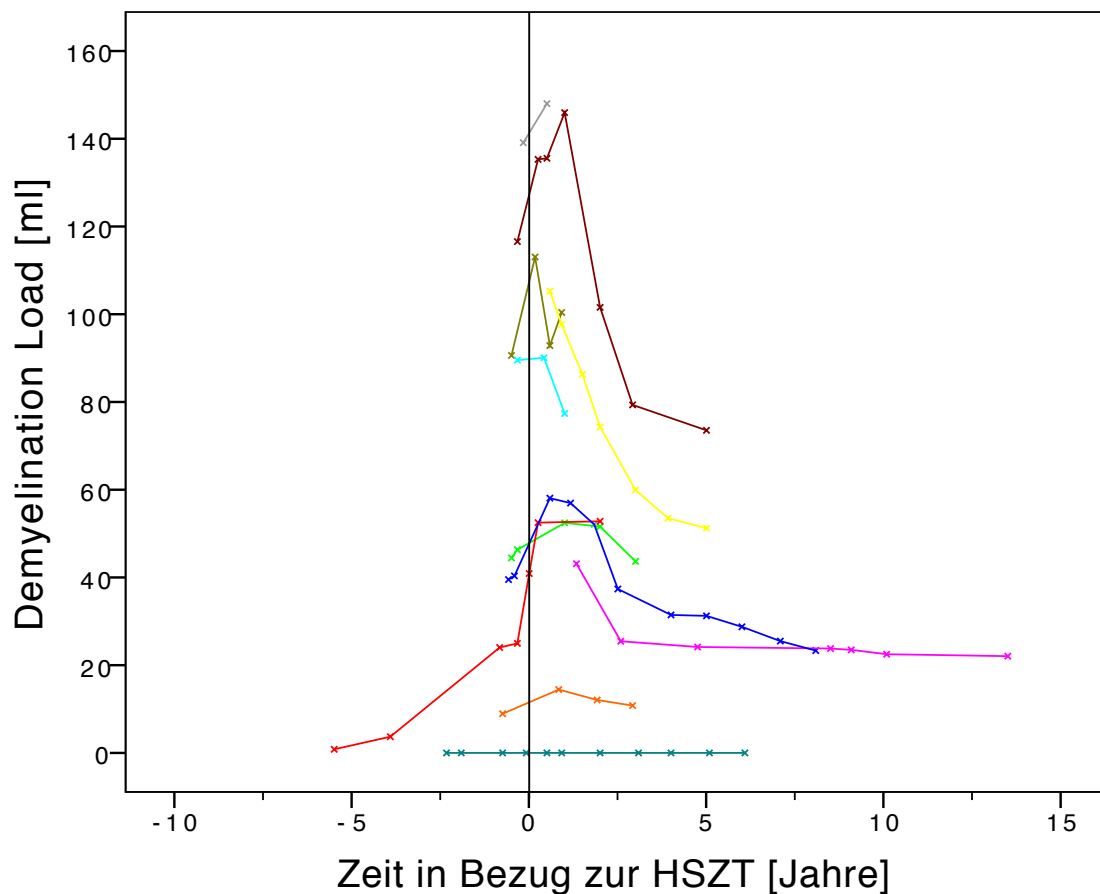


Abb. 37: Demyelination Load-Entwicklung der transplantierten Patienten in Bezug zum Transplantationszeitpunkt. Die DL-Werte der 11 transplantierten Patienten sind in unterschiedlichen Farben im Verlauf der Zeit aufgetragen. In Schwarz ist der Zeitpunkt der Stammzelltransplantation gekennzeichnet, zu 2 Patienten gibt es keine Aufnahme vor der Transplantation.

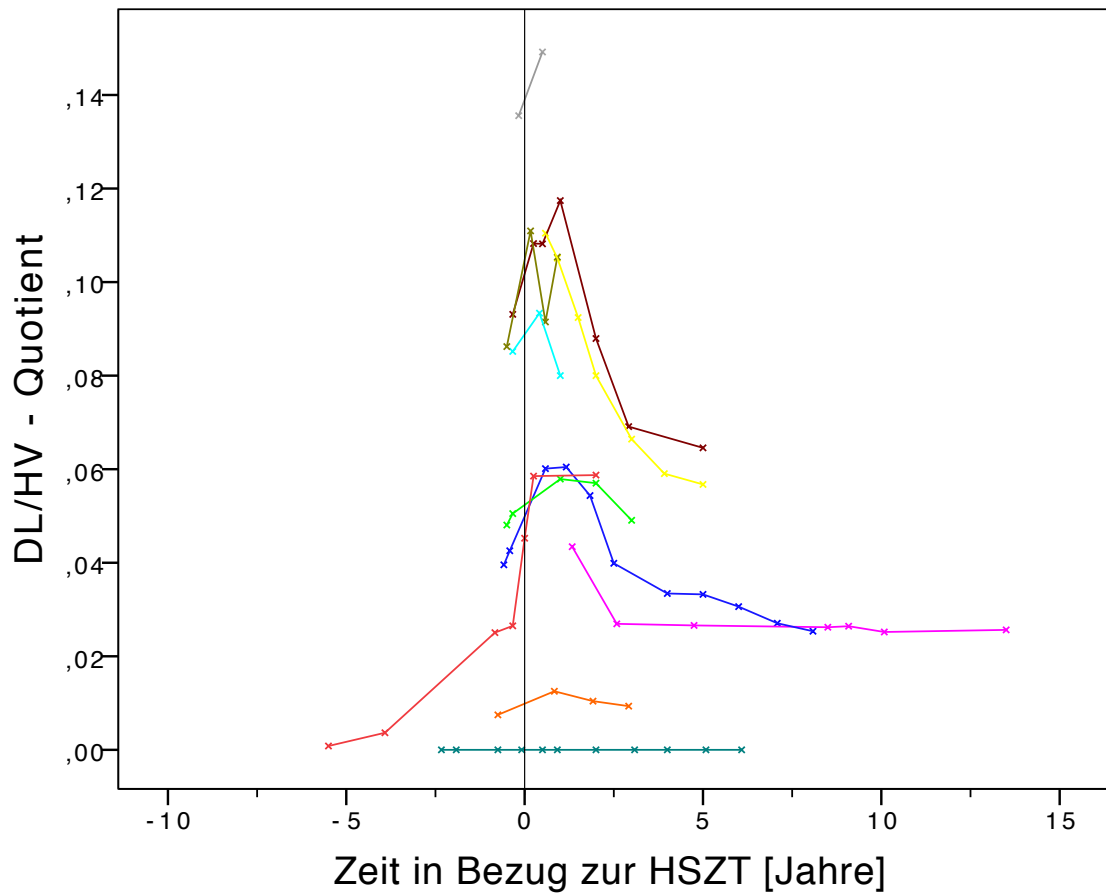


Abb. 38: Entwicklung des korrigierten Demyelination Loads der transplantierten Patienten in Bezug zum Transplantationszeitpunkt. Der DL wird auf das jeweilige Hirnvolumen der Patienten zum selben Zeitpunkt bezogen. Dazu wird der Quotient DL/HV gebildet. Die Werte der 11 transplantierten Patienten sind in unterschiedlichen Farben im Verlauf der Zeit aufgetragen. In Schwarz ist der Zeitpunkt der Stammzelltransplantation gekennzeichnet, zu 2 Patienten gibt es keine Aufnahme vor der Transplantation.

Die dargestellten Verläufe des Demyelination Loads gleichen sich in der zeitlichen Dynamik und zeigten bis auf eine Ausnahme für alle Patienten einen Anstieg des MRT-Parameters unmittelbar nach der Stammzelltransplantation (s. Abb. 37 und 38). Bei den meisten Patienten konnte nach einem Jahr der weitere Anstieg des Demyelination Loads verhindert werden; 2-2,5 Jahre nach der Transplantation war er bei fast allen wieder gesunken. 5 Jahre nach der Intervention wiesen alle noch beobachteten Patienten eine Stabilisierungstendenz der Demyelination Load-Werte auf einem Niveau unterhalb des Ausgangswertes auf. Einzige Ausnahme bildete ein Proband, bei dem die Demyelinisierung noch nicht begonnen hatte.

Patienten mit hohen Demyelination Load-Ausgangswerten ($>80\text{ml}$ bzw. einem DL/HV-Quotient $>0,075$) konnten diese sehr rasch nach der Transplantation deutlich senken.

Patienten, deren Werte zum Zeitpunkt der Transplantation noch relativ niedrig waren ($<55\text{ml}$ bzw. DL/HV-Quotient $<0,055$), wiesen deutliche Verbesserungen eher später auf.

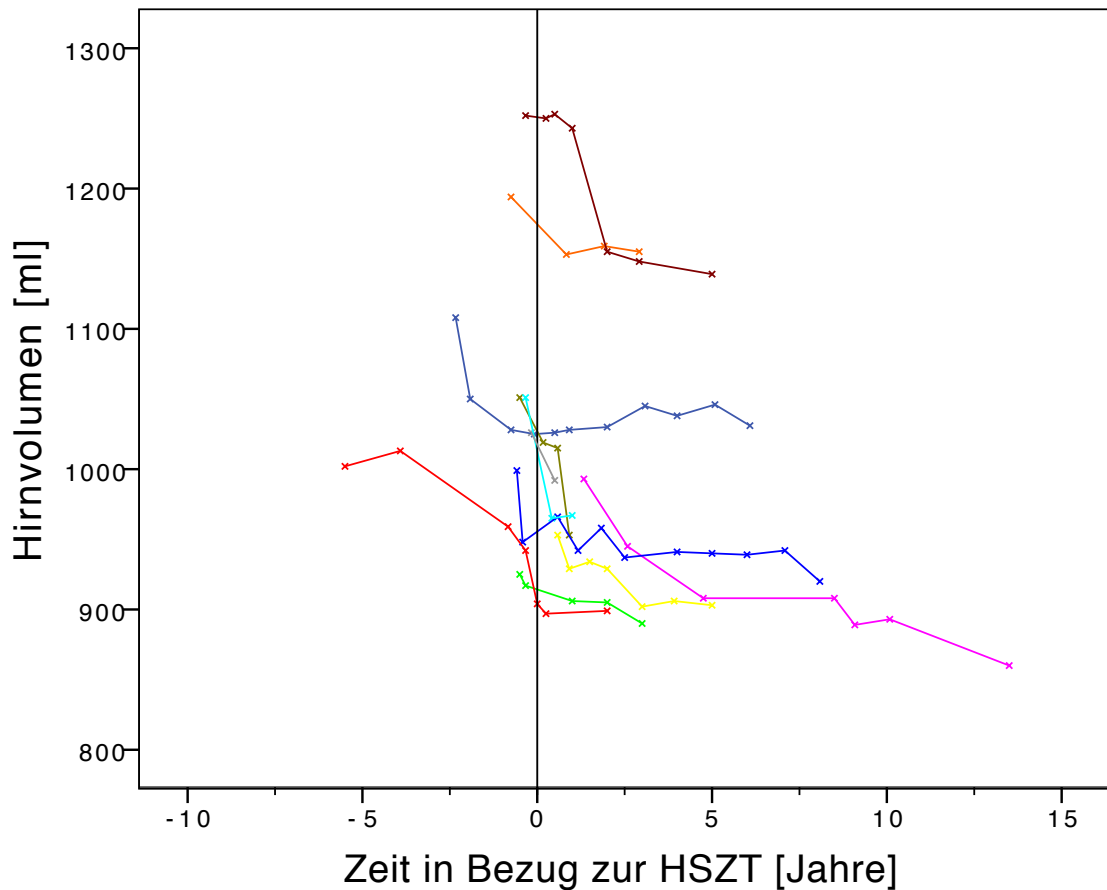


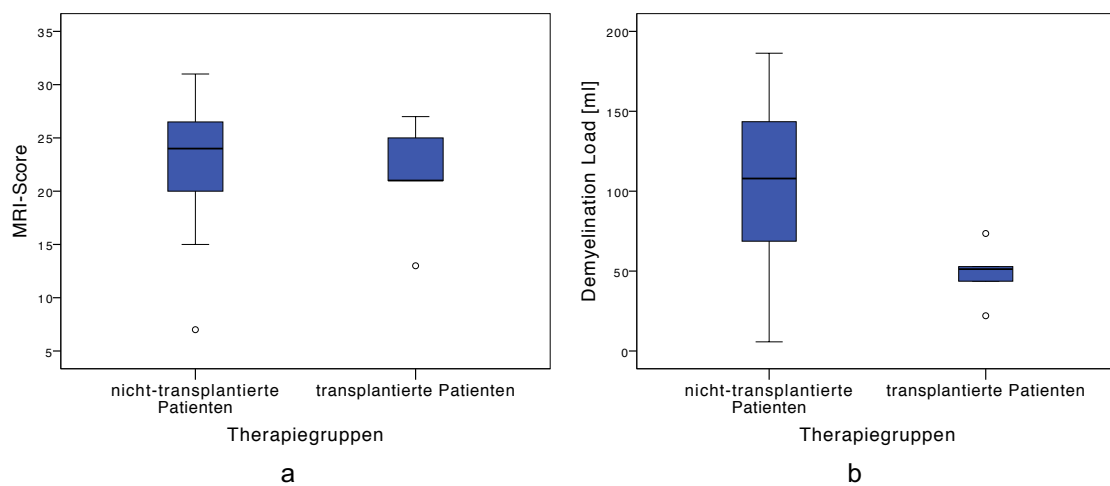
Abb. 39: Hirnvolumenentwicklung der transplantierten Patienten in Bezug zum Transplantationszeitpunkt. Die Hirnvolumen-Werte der 11 transplantierten Patienten sind in unterschiedlichen Farben im Verlauf der Zeit aufgetragen. In Schwarz ist der Zeitpunkt der Stammzelltransplantation gekennzeichnet, zu 2 Patienten gibt es keine Aufnahme vor der Transplantation.

Bei mehreren Patienten konnte unmittelbar nach der Transplantation eine Abnahme des Hirnvolumens beobachtet werden (s. Abb. 39). Die meisten Patienten stabilisierten anschließend ihre Volumina für eine variable Zeit von wenigen bis mehreren Jahren (1,5 - 6 Jahre).

Eine effektive Zunahme des Volumens für längere Zeit konnte bis auf eine Ausnahme nicht festgestellt werden.

3.4.4 Langzeiteffekt der Stammzelltransplantation

Insgesamt 33 Patienten haben zum Zeitpunkt ihrer letzten MRT-Untersuchung Krankheitssymptome der MLD aufgewiesen. Davon waren 5 Patienten in der „transplantierten“ und 28 in der „nicht-transplantierten“ Gruppe.



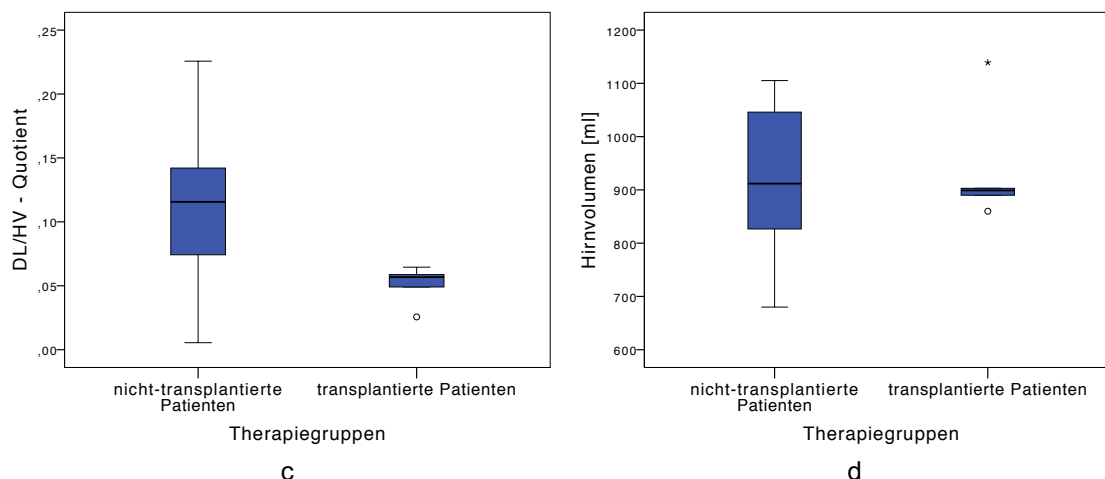


Abb. 40: Unterschied der MRT-Parameter bei Patienten mit und ohne Stammzelltransplantation. In den Boxplots a-d sind die 33 symptomatischen Patienten in die Gruppen „transplantiert“ und „nicht-transplantiert“ eingeteilt. Die Unterschiede der beiden Gruppen beziehen sich jeweils auf das letzte MRT-Messergebnis für a) den MRI-Score, b) den Demyelination Load (DL) in Millilitern (ml), c) den Quotienten aus Demyelination Load und Hirnvolumen (DL/HV-Quotient) und d) das Hirnvolumen in Millilitern (ml).

Abbildung 40 gibt die Unterschiede der MRT-Parameter zwischen transplantierten und nicht-transplantierten Patienten zum letzten Beobachtungszeitpunkt wieder.

Der t-Test zeigte, dass die transplantierten Patienten im Mittel signifikant niedrigere Werte in Demyelination Load ($\Delta=-56,1\text{ml}$; $p<0,001$) und Quotienten aus Demyelination Load und Hirnvolumen ($\Delta=-0,062$; $p<0,0001$) hatten (siehe Tabelle 19).

Tab. 19: Mittelwerte der MRT-Parameter bei Patienten mit und ohne HSZT. Die Tabelle gibt die Mittelwerte und Standardabweichungen der Parameter MRI-Score, Demyelination Load in Millilitern (ml), dem DL/HV-Quotienten und Hirnvolumen in Millilitern (ml) getrennt nach HSZT-Intervention an. Zusätzlich sind die Ergebnisse des t-Tests angegeben. Signifikanzniveau: $p<0,05$.

MRT-Parameter	transplantiert	nicht-transplantiert	Signifikanz
MRI-Score	21,4 ($\pm 5,37$)	23,4 ($\pm 5,32$)	$p=0,46$
Demyelination Load ml	48,7 ($\pm 18,54$)	104,8 ($\pm 45,42$)	$p<0,001$
DL/HV-Quotient	0,051 ($\pm 0,015$)	0,113 ($\pm 0,047$)	$p<0,0001$
Hirnvolumen ml	938,2 ($\pm 113,51$)	928,9 ($\pm 123,21$)	$p=0,88$

Die transplantierten Patienten unterschieden sich weder im Alter ($\Delta=2,93$ Jahre, $p=0,133$) noch im Zeitraum von Symptombeginn bis MRT-Bild ($\Delta=3,13$ Jahre, $p=0,495$) zweiseitig signifikant von den nicht-transplantierten Patienten.

3.5 Prognostische Aussagekraft der MRT-Parameter für den Therapieerfolg der Stammzelltransplantation

15 Patienten entsprachen den definierten Einschlusskriterien (s. 2.6.5). 8 dieser Patienten zeigten nach der Stammzelltransplantation eine Stabilisierung des Krankheitsverlaufes, 7 wiesen ein Fortschreiten der MLD-Symptomatik auf. Entsprechend erfolgte die Zuteilung zu den Gruppen „Stabilisierung nach HSZT“ und „Progression nach HSZT“.

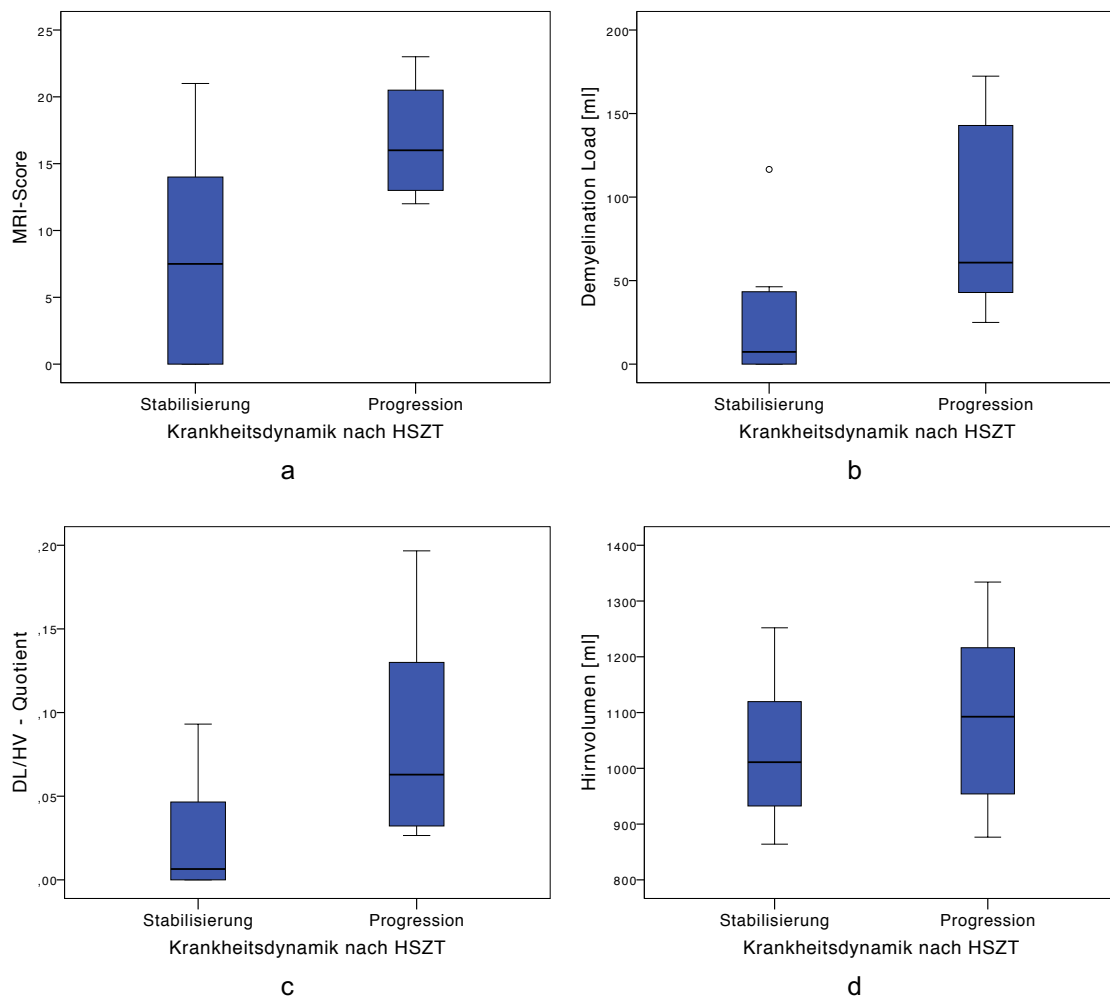


Abb. 41: Unterschied der MRT-Parameter vor der Stammzelltransplantation bei Patienten mit unterschiedlichem Ansprechen auf die HSZT. In den Boxplots a-d sind die 15 transplantierten Patienten in die Gruppen „Stabilisierung“ und „Progression“ eingeteilt. Die Unterschiede der beiden Gruppen beziehen sich jeweils auf das MRT-Messergebnis vor der HSZT für a) den MRI-Score, b) den Demyelination Load (DL) in Millilitern (ml), c) den Quotienten aus Demyelination Load und Hirnvolumen (DL/HV-Quotient) und d) das Hirnvolumen in Millilitern (ml).

Abbildung 41 zeigt die Unterschiede der MRT-Parameter vor der Stammzelltransplantation getrennt nach dem späteren Erfolg der Therapie.

Patienten mit einer Stabilisierung der Symptome, wiesen dem MWU-Test zufolge signifikant niedrigere Werte für den MRI-Score ($\Delta=-8,9$; $p=0,011$), Demyelination Load ($\Delta=-62,7\text{ml}$; $p=0,015$) und DL/HV-Quotienten ($\Delta=-0,062$; $p=0,02$) vor der Transplantation auf. Das Hirnvolumen unterschied sich nicht signifikant zwischen den Patientengruppen ($\Delta=-61,7\text{ml}$; $p=0,27$).

Tab. 20: Mittelwerte der MRT-Parameter bei Patienten mit unterschiedlichem Ansprechen auf die HSZT. Die Tabelle gibt die Mittelwerte und Standardabweichungen der Parameter MRI-Score, Demyelination Load in Millilitern (ml), dem DL/HV-Quotienten und Hirnvolumen in Millilitern (ml) getrennt nach dem Ansprechen auf die HSZT zum Zeitpunkt vor der HSZT. Zusätzlich sind die Ergebnisse des MWU-Tests angegeben. Signifikanzniveau: $p<0,05$.

MRT-Parameter	Stabilisierung nach HSZT	Progression nach HSZT	Signifikanz
MRI-Score	8,0 ($\pm 8,04$)	16,9 ($\pm 4,53$)	$p=0,011$
Demyelination Load ml	27,2 ($\pm 40,60$)	89,9 ($\pm 60,61$)	$p=0,015$
DL/HV-Quotient	0,025 ($\pm 0,034$)	0,087 ($\pm 0,066$)	$p=0,02$
Hirnvolumen ml	1030,3 ($\pm 133,40$)	1092,0 ($\pm 182,04$)	$p=0,27$

3.6 Reliabilität der Demyelination Load Quantifizierung

Die Überprüfung der Intrarater-Reliabilität (s. Tab. 21) ergab einen mittleren DSC von 0,86.

Tab. 21: Überprüfung der Intrarater-Reliabilität für die Bestimmung des Demyelination Loads. Die Tabelle gibt das Demyelination Load-Ergebnis der beiden Messungen in Millilitern (ml) wieder, zusätzlich ist der Dice similarity coefficient (DSC) angegeben.

Reliabilitätsbestimmung	1. DL – Ergebnis	2. DL – Ergebnis	DSC
1	46	45	0,85
2	101	100	0,89
3	14	15	0,82
4	91	90	0,86
5	137	140	0,88
6	149	153	0,89
7	85	82	0,83
8	25	28	0,82
9	61	64	0,86
10	126	125	0,89

4 Diskussion

4.1 Messung der Demyelinisierung bei juveniler MLD

Die Demyelinisierung ist das charakteristische Merkmal der MLD. Sie gilt im Wesentlichen als hauptverantwortlich für die klinischen Symptome der Erkrankung (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2010). Die verschiedenen MLD-Mausmodelle zeigten jedoch auch, dass der genaue Stellenwert der Demyelinisierung für die Krankheitsentstehung noch nicht vollkommen geklärt ist. So war das MLD-Charakteristikum Demyelinisierung bei ASA-Knockout-Mäusen nicht vorhanden oder deutlich milder als bei Menschen ausgeprägt (Hess et al. 1996, Gieselmann et al. 2003, Sevin et al. 2006). Das überrascht besonders, da die Mäuse dennoch progressive neurologische Symptome entwickelten (D'Hooge et al. 2001). Zudem wurden bei den ASA-negativen Mäusen teilweise auf Demyelinisierung hinweisende Signalhyperintensitäten in T2-gewichteten MRT-Aufnahmen gefunden, die letztlich nicht als tatsächliche Demyelinisierungen bestätigt wurden (Gieselmann et al. 2003). Daher muss die tatsächliche Bedeutung der Signalhyperintensitäten weiter untersucht werden.

Auch bei Kindern mit spät-infantiler MLD konnte mit fortschreitender Krankheit eine kontinuierliche Zunahme der Demyelinisierung mithilfe des MRI-Scores beschrieben werden (Groeschel et al. 2011). Zudem wurde für diese MLD-Form gezeigt, dass auch der Demyelination Load mit der Krankheitsdauer und abnehmender Motorfunktion zunimmt (Groeschel et al. 2012). Somit ist der Demyelination Load für spät-infantile Patienten ein nützlicher, nichtinvasiver Parameter zur Krankheitsbeschreibung.

Diese Erkenntnis wurde hier erstmals für eine große Kohorte juveniler Patienten überprüft (s. auch Strölin et al. 2017). Die juvenile MLD zeichnet sich durch sehr unterschiedliche Verläufe der klinischen Symptomatik und im Schweregrad des weiteren Progresses aus. Auch in der MRT-Bildgebung spiegelt sich dies wieder. So können selbst bei noch asymptomatischen Patienten bereits MRT-Veränderungen beobachtet werden. Die Quantifizierung der Demyelinisierung

konnte somit dazu beitragen, deren Stellenwert für die Korrelation mit der Symptomatik aufzuzeigen.

Ein weiteres Ziel war es mit dem Demyelination Load als MRT-Parameter einen nichtinvasiven Biomarker zu etablieren. Dieser könnte künftig besonders für die Beschreibung von natürlichen Krankheitsverläufen von Nutzen sein. Sowohl die Beobachtung des individuellen Progresses als auch der Vergleich der Patienten untereinander wären dadurch erleichtert. Die daraus gewonnenen Erkenntnisse können im Idealfall als prognostische Kriterien für den Krankheitsverlauf zukünftiger Patienten nach Diagnosestellung dienen.

Abschließend war der Demyelination Load als Biomarker von besonderem Interesse für die Therapieevaluation der hämatopoetischen Stammzelltransplantation. Neben der Überwachung bereits erfolgter Therapieinterventionen sollte damit prädiktiv eine Aussage über den Erfolg geplanter Transplantationen möglich werden.

4.2 MRT-Parameter und klinische Symptomatik

Wie bereits beschrieben, führt Sulfatidakkumulation zur Schädigung der Oligodendrozyten im ZNS, was Demyelinisierungen zur Folge hat (s. 1.1.2). Dieser Prozess wird als ursächlich für die typischen kognitiven und motorischen Symptome angesehen. Die Annahme der Kausalität zwischen Demyelinisierung und Symptomatik konnte durch die Quantifizierung der MRT-Parameter, v.a. durch die Korrelation von Demyelination Load und kognitiver sowie motorischer Klinik, weiter bestätigt werden. Außerdem bekräftigte dies die Annahme, dass der Demyelination Load eine prognostische Aussagekraft für die Entwicklung zukünftiger Symptome besitzt.

4.2.1 Bedeutung für kognitive Symptome

Die Auswirkung der Demyelinisierung auf die kognitive Funktion wurde in dieser Arbeit anhand des IQs bzw. des kognitiven Zustandes der Patienten und den Aspekten des Sprachverlusts analysiert.

Die Korrelation von IQ und MRI-Score konnte einen klar negativen Zusammenhang aufzeigen. Hohe MRI-Scores gehen also mit signifikant niedrigeren Intelligenzquotienten einher ($r=-0,70$; $p<0,0001$). Übereinstimmend wurde eine negative Korrelation des Demyelination Loads mit dem IQ festgestellt. Der Zusammenhang ließ sich ebenfalls durch den korrigierten Demyelination Load darstellen ($r=-0,55$; $p<0,0001$) (s. auch Strölin et al. 2016, Strölin et al. 2017). Da der Demyelination Load ein direktes Maß für die Demyelinisierung im ZNS darstellt, wurde somit deren Bedeutung für den kognitiven Allgemeinzustand der Patienten deutlich: Je größer das Volumen der demyelinisierten weißen Substanz im ZNS, desto stärker war die kognitive Beeinträchtigung der Patienten. Dies wurde noch offenkundiger, als man das demyelinisierte Volumen im Verhältnis zum Gesamthirnvolumen betrachtete. Das relative Ausmaß der Demyelinisierung gibt die Ausprägung der Läsionen aussagekräftiger wieder als der Absolutwert, da dabei die individuelle Größe des Gehirns berücksichtigt wird. Diese kann aufgrund von bereits eingetretener krankheitsbedingter Atrophie oder den natürlich vorkommenden Schwankungen im Volumen der grauen und weißen Substanz interindividuell variieren.

Die Ergebnisse zeigten außerdem eine schwach ausgeprägte, positive Korrelation zwischen Hirnvolumen und IQ der Patienten ($r=0,36$; $p<0,01$). Im späten Krankheitsverlauf sind bei Kindern mit juveniler MLD ausgeprägte kognitive Defizite zu beobachten (Kehrer et al. 2014). Da die Hirnatrophie ebenfalls als typischer Befund juveniler Patienten mit fortgeschrittener MLD-Erkrankung auftritt (Groeschel et al. 2011), ist die positive Korrelation von niedrigem Hirnvolumen mit geringeren IQ-Werten schlüssig.

Zur Unterscheidung von Patienten mit normaler Kognition und kognitiven Defiziten wurde eine gröbere Einschätzung des kognitiven Zustandes vorgenommen (für die Einteilungskriterien s. Kapitel 2.6.1). Eine schlechte kognitive Verfas-

sung war immer mit hohen MRI-Scores vergesellschaftet. Allerdings konnten auch Patienten mit guten kognitiven Leistungen hohe MRI-Score-Werte aufweisen (s. Abb. 12).

Patienten mit normaler Kognition hatten im Schnitt deutlich geringere Demyelination Load-Werte, was die Ergebnisse der Korrelation mit dem MRI-Score bestätigte (s. Tab. 5). Anders als der MRI-Score war ein niedriger Demyelination Load nicht prädiktiv für das Fehlen kognitiver Symptome, da auch beeinträchtigte Patienten zum Teil sehr niedrige Demyelination Load-Werte aufwiesen. Analog hierzu verhielt sich der Quotient aus Demyelination Load und Hirnvolumen.

Das Hirnvolumen war bei Patienten mit kognitiven Defiziten im Durchschnitt signifikant geringer (s. Tab. 5). Dadurch wird die Vermutung bestätigt, dass verminderte Hirnvolumina bei MLD mit schlechteren kognitiven Leistungen verbunden sind. In der Literatur wurde bereits ein allgemeiner Zusammenhang von absoluter Gehirngröße (Hirnvolumen) und kognitiver Funktion diskutiert (McDaniel 2005). Jedoch handelt es sich dabei vermutlich um eine eher untergeordnete Beeinflussung des Krankheitsverlaufes bei MLD, da die Gehirnatrophie im späten Stadium auftritt. Zu diesem Zeitpunkt sind typische kognitive Symptome in der Regel bereits aufgetreten.

Als zweiter Messparameter für die kognitive Leistungsfähigkeit wurden Aspekte des Sprachverlusts herangezogen. Dabei wurde zwischen der normalen Sprache, dem Auftreten von Sprachsymptomen (z.B. Wortfindungsstörungen oder Stottern) und dem vollständigen Sprachverlust unterschieden.

Patienten mit zunehmenden Sprachdefiziten hatten signifikant höhere MRI-Scores. Kinder mit erhaltener, flüssiger Sprache konnten zwar auch sehr hohe MRI-Scores haben, ab dem Auftreten von Sprachsymptomen kamen aber ausschließlich hohe und ab dem Zeitpunkt des Sprachverlustes noch höhere MRI-Score-Werte vor (s. Abb. 13 u. Tab. 8). Diese Beobachtung passt zu den steigenden MRI-Scores bei abnehmendem IQ und entspricht auch den Erwartungen bei einem stark von Demyelinisierungen gezeichneten Gehirn.

Der Demyelination Load nahm mit Verschlechterung der Sprachfähigkeiten signifikant zu. Patienten mit Sprachsymptomen hatten im Vergleich zu Normal-

sprechenden durchschnittlich einen höheren Demyelination Load; war die Fähigkeit zu sprechen ganz verloren, wiesen die Patienten noch höhere Werte auf. Allerdings führten auch sehr hohe Demyelination Load-Werte nicht zwangsläufig bei allen Patienten zur Ausbildung von Sprachsymptomen (s. Abb. 14 u. Tab. 9).

Die Ergebnisse wurden erwartungsgemäß durch die Untersuchung des Quotienten aus Demyelination Load und Hirnvolumen bestärkt. So wurde bei Patienten mit Sprachsymptomen oder völligem Sprachverlust im Vergleich zu Normalsprechenden ein durchschnittlich signifikant höherer DL/HV-Quotient gefunden. Dabei wurden für Patienten mit Verlust der Sprache auch signifikant höhere Werte im Vergleich zu symptomatisch Sprechenden festgestellt (s. Abb. 15 u. Tab. 10). Die Unterschiede zwischen den verschiedenen Symptomgruppen konnten mit dem korrigierten Demyelination Load deutlich dargestellt werden. Somit ist ein zum Hirnvolumen relativ hohes Läsionsvolumen nicht nur assoziiert mit abnehmenden IQ-Werten, sondern auch mit der Beeinträchtigung der verbalen Fähigkeiten bis hin zum kompletten Sprachverlust. Da bei der Sprachentstehung als komplexe kognitive Leistung des Gehirns die weiße Substanz in hohem Maße involviert ist, sind diese Beobachtungen gut nachzuvollziehen.

Die Betrachtung des Hirnvolumens in Bezug zu den unterschiedlichen Aspekten des Sprachverlusts konnte zeigen, dass Patienten mit Sprachsymptomen niedrigere Volumina als Normalsprechende aufwiesen. Der Unterschied zu Patienten mit vollständigem Sprachverlust war dabei noch stärker ausgeprägt. Zudem hatten Patienten mit komplettem Sprachverlust ein vermindertes Hirnvolumen im Vergleich zu denjenigen, die bisher nur durch Sprachsymptome auffällig wurden (s. Abb. 16 u. Tab. 11). Wir konnten somit zeigen, dass mit sinkendem Volumen der grauen und weißen Substanz im Gehirn die Fähigkeit zur regelrechten Sprachbildung abnimmt. Diese Beobachtung deckt sich mit dem abnehmenden IQ bei niedrigen Hirnvolumina.

Die vorliegenden Ergebnisse belegen, dass sowohl mit zunehmendem MRI-Score als auch mit steigendem (korrigierten) Demyelination Load der IQ der Patienten sinkt und die Sprachfähigkeit abnimmt. Diese Beobachtung un-

terstreicht die Bedeutung der Demyelinisierung für die Entwicklung der typischen kognitiven Symptome bei juveniler MLD (s. auch Strölin et al. 2017). Die Ergebnisse bestätigen somit die Arbeit von Tillema et al. aus dem Jahr 2015. Dort wurde eine negative Korrelation der IQ-Werte mit den MRI-Scores von $r=-0,87$ und dem Demyelination Load von $r=-0,57$ gefunden (Tillema et al. 2015). Allerdings enthielt die Studie von Tillema et al. mit 13 Patienten deutlich weniger MRT-Aufnahmen als die vorliegende Arbeit. Zudem wurden Aufnahmen von spät-infantilen, juvenilen und adulten MLD-Patienten ausgewertet. Dies setzt die Vergleichbarkeit der Ergebnisse herab. In ihrer Untersuchung fanden Tillema et al. keinen Zusammenhang zwischen IQ-Werten und dem Gesamthirnvolumen; die in dieser Arbeit gefundene Korrelation war nur sehr schwach ausgeprägt. In der Analyse der Unterschiede zwischen Patienten mit normaler Kognition bzw. kognitiven Defiziten wurde jedoch ein deutlicher, signifikanter Unterschied im Hirnvolumen gefunden (s. Tab. 5). Die Annahme, dass die Abnahme des Hirnvolumens Einfluss auf den Gesamtintelligenzquotienten und somit den kognitiven Zustand der juvenilen MLD-Patienten hat, liegt nahe.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass die kognitiven Leistungen von juvenilen MLD-Patienten anhand des MRI-Scores und Demyelination Loads überwacht und nachvollzogen werden können. Dies bestärkt die Theorie, dass die zunehmende Demyelinisierung des ZNS verantwortlich für die kognitiven Symptome ist. Auch niedrige Hirnvolumina gingen mit abnehmenden kognitiven Fähigkeiten einher. Dabei muss immer die große Variabilität im Ausprägungsgrad der kognitiven Symptomatik bei juvenilen Patienten berücksichtigt werden (Kehrer et al. 2014)

Analog zum Demyelination Load in der MLD wird in der Diagnostik und Erforschung der Multiplen Sklerose seit längerem der sog. Lesion Load oder Lesion Burden bestimmt. Es wurde u.a. die positive Korrelation von Lesion Load und Hirnatrophie mit der Lebensqualität nachgewiesen (Mowry et al. 2009). In der Vergangenheit wurde der Fokus in der MRT-Diagnostik bei Multipler Sklerose stark auf den Lesion Load und das Hirnvolumen eingeschränkt. Mithilfe des sog. Brief Repeatable Battery wurden kognitive Symptome und Leistungsfähigkeiten der Patienten mit den MRT-Parametern korreliert. Dabei konnte zunehmende

Lesion Load-Werte mehrfach mit abnehmender Kognition in Verbindung gebracht werden (Lazeron et al. 2005, Tiemann et al. 2009, Pinter et al. 2014).

Neuere Studien weisen jedoch darauf hin, dass der Lesion Load nicht der einzig geeignete Biomarker für kognitive Funktionen darstellt. Daher befassen sie sich mit der Untersuchung weiterer MRT-Parameter. Pinter et al. fanden in diesem Zusammenhang, dass die Aussagekraft eines Parameters abhängig von der spezifisch betrachteten kognitiven Domäne ist. So konnte beispielsweise das kortikale Volumen mit der allgemeinen kognitiven Funktion, die Messung von Eisenablagerung in den Basalganglien mit kognitiver Leistungsfähigkeit und das Thalamus-/Hippocampusvolumen mit der Gedächtnisleistung assoziiert werden (Pinter et al. 2015). Aus diesem Grund schlagen Pinter et al. eine multiparametrische MRT-Diagnostik für verschiedene kognitive Dimensionen vor.

Die Ergebnisse dieser Arbeit, die Studie von Tillema et al. sowie die Studienlage in der Multiplen Sklerose-Forschung legen nahe, dass der Demyelination Load in der MLD ein guter Surrogatparameter für kognitive Symptome darstellt. Allerdings wird auch deutlich, dass die Erforschung anderer MRT-Parameter, wie beispielsweise kortikale und subkortikale Volumen- und Schichtdickenbestimmung, nicht vernachlässigt, sondern weiter vorangetrieben werden sollten.

4.2.2 Bedeutung für motorische Symptome

Um die Bedeutung der Demyelinisierung auf die grobmotorischen Fähigkeiten der juvenilen Patienten zu untersuchen, wurde der GMFC-MLD-Score in dieser Arbeit mit den verschiedenen MRT-Parametern korreliert. Die Ergebnisse zeigten dabei trotz Abweichungen der Zusammenhangsstärke eine deutliche positive Korrelation des MRI-Scores mit dem GMFC-MLD-Score ($\rho_{\text{Gesamtdaten}}=0,53$ u. $\rho_{\text{Querschnittsdaten}}=0,74$; $p<0,0000001$). Somit wurde auch die klinische Beobachtung bestätigt, dass Patienten mit erheblichen Schwierigkeiten in der motorischen Funktion multipel betroffene (d.h. demyelinisierte) Befunde im MRT aufweisen. Zwar können auch Patienten ohne motorische Funktionsverluste hohe MRI-Scores zeigen, allerdings wurden ab GMFC-MLD-Level 4 (kein freies Sitzen oder keine freie Fortbewegung mehr möglich) ausschließlich sehr hohe

MRI-Scores von mindestens 19 Punkten beobachtet (s. Abb. 17). Mit zunehmender Ausbreitung der Demyelinisierung und stärker betroffenen Hirnregionen nahmen die grobmotorischen Symptome somit deutlich zu.

Des Weiteren konnte eine positive Korrelation zwischen Demyelination Load und GMFC-MLD-Score festgestellt werden (s. Abb. 18). Mit der Zunahme von Demyelinisierung im Gehirn verschlechtert sich also neben der kognitiven auch die motorische Symptomatik. Dieses Ergebnis deckt sich mit der vorherrschenden Theorie der Pathogenese der MLD. Deutlicher war der Zusammenhang von GMFC-MLD-Score und dem korrigierten Demyelination Load ($\rho=0,55$; $p<0,00000000001$) (s. auch Strölin et al. 2016, Strölin et al. 2017). Damit war der Quotient aus Demyelination Load und Hirnvolumen neben der Vorhersagekraft für die kognitiven auch für die motorischen Defizite ein sensitiveres Maß als der unkorrigierte Demyelination Load.

Nicht eindeutig war der Zusammenhang zwischen dem Hirnvolumen und der Ausprägung grobmotorischer Defizite. Die Querschnittsanalyse konnte auf eine schwach negative Korrelation zwischen dem Hirnvolumen und dem GMFC-MLD-Score hinweisen ($\rho=-0,26$; $p<0,05$), welche für alle MRT-Daten jedoch nicht signifikant war. Bei juvenilen Patienten konnten im späten Stadium ausgeprägte Hirnatrophien beobachtet werden (Groeschel et al. 2011). Daher war auch eine Korrelation zwischen niedrigen Hirnvolumina und hohen GMFC-MLD-Scores erwartet worden. Die Korrelation von Hirnvolumen und kognitiven Parametern war ebenfalls nur schwach ausgeprägt. Es bleibt somit fraglich, inwiefern ein Zusammenhang zwischen dem Hirnvolumen und der motorischen sowie kognitiven Symptomatik der Patienten besteht. Eine generelle Einflussnahme des Hirnvolumens auf die typische MLD-Klinik sollte aufgrund der gefundenen signifikanten Korrelationen in Betracht gezogen werden. Ein Grund für die schwach ausgeprägten Korrelationsverhältnisse kann in der Methodik der Hirnvolumenmessungen liegen.

Die Beobachtungen belegen eine gute Vorhersagekraft des MRI-Scores für motorische Defizite. Groeschel et al. konnten eine hohe Korrelation von $\rho=0,73$ des MRI-Scores mit dem GMFC-MLD-Score bei spät-infantilen Patienten nach-

weisen (Groeschel et al. 2011). Für juvenile Patienten war diese geringer ($\rho=0,50$) (Groeschel et al. 2011), aber insgesamt vergleichbar mit den Ergebnissen dieser Arbeit. Groeschel et al. merkten an, dass Korrelationskoeffizienten bei juvenilen generell niedriger als bei den spät-infantilen Patienten ausfielen. Die Ursache dafür vermuteten sie in der inhomogenen Verteilung der GMFC-MLD-Scores bei juvenilen Patienten (Groeschel et al. 2011). Tatsächlich ist der MRI-Score ein relativ starrer Parameter, welcher offensichtlich weniger für die Beschreibung des variablen und interindividuellen Krankheitsverlaufes der juvenilen, als für den der spät-infantilen Patienten geeignet ist.

Umso wertvoller für die Beschreibung des nichtstereotyp ablaufenden juvenilen Krankheitsprogresses ist daher, dass mit dem (korrigierten) Demyelination Load ein sehr sensibler Verlaufsparemeter für die kognitiven und motorischen Symptome gefunden wurde (s. auch Strölin et al. 2017). Die Korrelation zwischen Demyelination Load und GMFC-MLD-Score bestätigt die Ergebnisse von Groeschel et al. von 2012. Dort wurde eine signifikant positive Korrelation von $\rho=0,66$ gefunden (Groeschel et al. 2012). Allerdings stammt dieses Ergebnis aus einer relativ kleinen Analyse mit 18 spät-infantilen Patienten. Unsere Überprüfung an einer großen Kohorte juveniler Patienten konnte die Vorhersagekraft des Demyelination Loads und des durch das Hirnvolumen korrigierten Demyelination Loads für motorische Symptome bestätigen. Möglicherweise ist der variable Krankheitsverlauf aber nicht exakt durch die alleinige quantitative Messung der Gesamtdemyelinisierung zu erfassen, wie es bei der spät-infantilen Verlaufsform der Fall ist. Die Heterogenität im Symptompektrum lässt vermuten, dass die Lokalisation der Demyelinisierung eine größere Sensitivität für die Vorhersage und Krankheitsüberwachung der MLD-Symptome ermöglicht als die alleinige Quantifizierung.

4.2.3 Lokalisation des Demyelination Loads

Ausgehend von einer Struktur-Funktion-Beziehung im Gehirn liegt die Vermutung nahe, dass nicht allein das quantitative Ausmaß der Demyelinisierung,

sondern auch deren Lokalisation im Gehirn von entscheidender Bedeutung für die spezifische Symptomatik der Patienten ist.

Die Auswirkung der Läsionslokalisierung auf die kognitive Klinik wurde anhand der klinischen Parameter IQ, Einteilung der Patienten in Gruppen mit normaler Kognition oder kognitiven Defiziten sowie der Aspekte des Sprachverlusts überprüft. Dabei konnte eine sehr deutliche Korrelation zwischen sinkenden IQ-Werten und der Demyelinisierung der frontalen Gehirnregionen festgestellt werden (s. Abb. 21). Wie erwartet, geht die abnehmende kognitive Allgemeinfunktion der juvenilen MLD-Patienten mit einer verstärkten Lokalisation von degenerativen Prozessen in den frontalen Hirnanteilen einher (s. auch Strölin et al. 2017).

Die Unterscheidung von Patienten mit normaler Kognition und kognitiven Defiziten bestätigte die frontale Betonung. Die deutlich gröbere Klassifizierung des kognitiven Zustandes der Patienten erklärt hierbei auch die insgesamt globalere und stärker ausgeprägte Assoziation der Läsionslokalisierung mit den Hirnregionen (v.a. Corpus callosum und parieto-okzipital) (s. Abb. 22).

Die Frontalregion des Gehirns war ebenfalls das Areal mit den höchsten z-Scores bei Patienten mit Störungen der Sprache (bis hin zum kompletten Sprachverlust). Entsprechend dem komplexen Vorgang der Sprachverarbeitung, an welchem verschiedene Hirnregionen beteiligt sind, wurden auch parieto-okzipital, im Corpus callosum und dem Temporallappen korrelierende Areale gefunden (s. Abb. 23 u. 24).

Die Zuordnung von Hirnbereichen zu spezifischen Funktionen und darüber hinaus zu komplex verbundenen, funktionalen Netzwerken, hat eine lange Historie und ist nach wie vor Gegenstand der Forschung. Wu et al. fanden in ihrer fMRT-Analyse (funktionelle Magnetresonanztomographie), dass sich besonders die übergeordneten kognitiven Funktionen des Frontallappens in der Kindheit entwickeln (Wu et al. 2013). Dort sind u.a. die Domänen Auffassungsfähigkeit, Kontrolle von Exekutivfunktionen, Arbeitsgedächtnis, episodisches Gedächtnis und Problemlösung zu finden (Duncan und Owen 2000). Läsionen in dieser Region erklären die Entwicklung von typischen Symptomen der juvenilen MLD-

Patienten. So treten zunächst oft unspezifische kognitive Hinweise auf die Erkrankung auf, wie beispielsweise nachlassende schulische Leistungen, Aufmerksamkeitsdefizite und psychiatrischen Auffälligkeiten (von Figura et al. 2001, Colsch et al. 2008, Kehrer et al. 2014).

Auch die Hirnareale, welche besonders stark mit der schlechter werdenden Sprache korrelierten, waren plausibel: Als kognitive Domäne sind in die Entstehung und Planung der Sprache auch frontale Hirnregionen involviert. Eine klare Zuordnung der Beteiligung von Broca-Areal (inferiorer Frontallappen), Fasciculus arcuatus (von temporo-parietal nach frontal ziehend) und Wernicke-Areal (temporoparietal) war nicht zweifelsfrei möglich. Allerdings werden die Läsionsfunde im (Prä-)Frontallappen und Temporallappen durch bisherige PET und fMRT-Studien unterstützt (Cabeza und Nyberg 2000).

Die Korrelation von Läsionsort und GMFC-MLD-Score lieferte global verteilte, hohe z-Scores. Damit wurde zunächst der Eindruck bestätigt, dass Patienten mit stark betroffener Motorik, z.B. dem Verlust des selbstständigen Gehens (GMFC-MLD-Score 2), bereits ein stark von Demyelinisierung betroffenes Gehirn aufweisen. Die deutlichste Signifikanz der Korrelation fand sich dabei im Bereich der (Peri-)Zentralregion und im Frontalhirn (s. Abb. 25; s. auch Strölin et al. 2017). Der Ort der Demyelinisierung erklärt aus anatomischer Sicht die motorischen Symptome: Aus zahlreichen fMRT-Studien (v.a. der Schlaganfall-diagnostik) ist bekannt, dass die Ausfälle besonders durch Läsionen des primär motorischen Kortex (M1), prämotorischen Kortex (PMA) und supplementär motorischen Kortex (SMA) bedingt sind. Die Areale befinden sich im Bereich der (Peri-)Zentralregion (Rehme et al. 2012, Sira und Mateer 2014).

Auffallend bei den kognitiven Symptomen war, dass die Korrelation mit der Demyelinisierungslokalisation besonders in frontalen Hirnarealen sehr stark, in der Zentralregion jedoch nur wenig (Aspekte des Sprachverlusts) oder nicht (IQ) signifikant waren. Daraus kann geschlossen werden, dass kognitive Defizite bei juvenilen Patienten isoliert vorkommen können, aber aufgrund der fehlenden Zentralbeteiligung noch keine Beteiligung der Motorik vorhanden sein muss (s. auch Strölin et al. 2017). Isolierte kognitive Symptome können bei juvenilen Pa-

tienten relativ häufig zu Erkrankungsbeginn beobachtet werden (von Figura et al. 2001, Colsch et al. 2008, Kehrer et al. 2014). Dies ist nun auch in den VLMSs erkennbar geworden.

Im Gegensatz dazu war bei Patienten mit motorischen Symptomen neben der Zentralregion auch die Frontalregion stark demyelinisiert. Daher ist bei der Ausbildung motorischer Defizite auch mit einer Verschlechterung der kognitiven Fähigkeiten zu rechnen, da die Frontalregion zu diesem Zeitpunkt mitbetroffen ist (s. auch Strölin et al. 2017). Diese Erkenntnis passt sehr gut zu den beobachteten stereotypen Krankheitsverläufen spät-infantiler Patienten, bei welchen motorische und kognitive Auffälligkeiten fast gleichzeitig auftreten (Kehrer et al. 2014). Auch bei juvenilen Patienten waren bereits Hinweise zu finden, dass die Verschlechterung der motorischen Klinik zwangsläufig mit dem Abbau kognitiver Fähigkeiten einhergeht (Krägeloh-Mann et al. 2013). Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen diese Vermutung.

Die frontale Mitbeteiligung bei Ausprägung motorischer Symptome erklärt auch den rasanten Abbau des Allgemeinzustandes, welcher nach dem Verlust des selbstständigen Gehens (GMFC-MLD-Score 2) bei juvenilen Patienten eintritt (Kehrer et al. 2011b, Groeschel et al. 2014). Es ist von großer Bedeutung für die Abwägung von Therapieoptionen das Einsetzen dieser Verschlechterung besser zu verstehen und vorhersagen zu können. Nach dem Verlust des selbstständigen Gehens erreichen die Patienten vermutlich keinen entscheidenden Vorteil mehr durch die Stammzelltransplantation (Sevin et al. 2007, Gieselmann 2008).

Es konnte gezeigt werden, dass neben dem quantitativen Ausmaß der Demyelinisierung besonders deren Lokalisation entscheidend an der Entwicklung der MLD-spezifischen kognitiven und motorischen Symptome beteiligt ist. Die weitere Untersuchung der MRT-Parameter und besonders der Läsionslokalisierung verspricht wichtige neue Erkenntnisse für die Prognostik des natürlichen Krankheitsverlaufes und die Beurteilung von Therapieoptionen zu liefern.

4.3 Demyelination Load als klinisch sinnvoller Surrogatparameter für Therapiestudien und Krankheitsverläufe?

Ein Ziel der vorliegenden Arbeit war zu überprüfen, ob sich der Demyelination Load als klinischer Surrogatparameter für die juvenile MLD eignet. Ein noninvasiver Biomarker hätte besonderen Wert für die Überwachung von Therapiestudien und den natürlichen Krankheitsverlauf der MLD.

Bisher sind v.a. biochemische Verfahren als Surrogatparameter etabliert. Zum einen sind diese Verfahren aber weder noninvasiv, noch sind sie ein unmittelbares Maß für den Fortschritt der Krankheit. Beachtet man den Pathomechanismus und die Demyelinisierung als Symptomatik verursachendes Charakteristikum der MLD, sind die Sulfatidausscheidung im Urin und Enzymaktivitäten nur als indirekte Surrogatparameter anzusehen.

Eine bessere Überwachung von Krankheitsprogress und Symptomatik wurde durch die Einführung des MRI-Scores möglich. Dieser hat sich als zuverlässiger MRT-Parameter der MLD herausgestellt (Eichler et al. 2009, Groeschel et al. 2011). Groeschel et al. fanden zudem, dass die MRT-Veränderungen den neurologischen Symptomen bei juveniler MLD vorausgehen können und somit prinzipiell als früher Marker dienen könnten (Groeschel et al. 2011). Der MRI-Score ist jedoch ein relativ rigider Parameter und kaum sensitiv für intraindividuelle Veränderungen. Seine Anwendung bedarf zudem einiger Erfahrung des Untersuchers, da sie bisher nicht automatisiert wurde.

Geht man von der Demyelinisierung der weißen Substanz als Ursache der MLD-Symptomatik aus, stellt der Demyelination Load das unmittelbarste Maß für die Ausprägung der Erkrankung dar. Die vorliegenden Korrelationen zwischen dem Demyelination Load und der motorischen und kognitiven Symptomatik zeigten einen deutlichen Zusammenhang des MRT-Parameters mit der für MLD typischen Klinik (s. auch Strölin et al. 2017). Die gute Vorhersagekraft des Demyelination Loads für motorische und kognitive Einschränkungen bestätigen die bisherigen Untersuchungen von Groeschel et al. und Tillema et al. (Groeschel et al. 2012, Tillema et al. 2015).

Die Korrelationen des Quotienten aus Demyelination Load und Hirnvolumen mit dem IQ und dem GMFC-MLD-Score waren nicht außerordentlich stark ausgeprägt (s. Abb. 10 u. Abb. 19). Ein großer Vorteil des Demyelination Loads war jedoch, dass er sich gut zur intraindividuellen Verlaufsbeschreibung eignete (s. Abb. 29 u. 30). Besonders im Vergleich zum MRI-Score konnte er somit als noch sensitiverer Parameter für die Erkennung von Gehirnveränderungen und Therapieansprechen bestätigt werden. Entsprechende Beobachtungen vorheriger Studien wurden hier bekräftigt (Krägeloh-Mann et al. 2013, Groeschel et al. 2014).

Von großem Wert ist zudem, dass der Demyelination Load mithilfe eines T2-gewichteten MRTs noninvasiv und mit einfachen diagnostischen Mitteln bestimmt werden kann. Durch die Entwicklung eines semi-automatischen Algorithmus konnte die Bestimmung des Demyelination Loads erleichtert und beschleunigt werden. Dadurch wurde eine hohe Vergleichbarkeit mit dem Goldstandard der manuellen Segmentierung erzielt (Clas et al. 2012). Die in der vorliegenden Arbeit erhobene Intrarater-Reliabilität war mit einem mittleren DSC von 0,86 hoch. Durch die Einführung vollautomatisierter Messungen kann die objektive Vergleichbarkeit auch bei unerfahrenen Anwendern in Zukunft sichergestellt werden (Groeschel et al. 2012).

Diese Arbeit konnte zeigen, dass der Demyelination Load ein sinnvoller klinischer Surrogatparameter für die Messung und Überwachung von Symptomen ist (s. auch Strölin et al. 2017). Mit seiner intraindividuellen Sensitivität für Hirnveränderungen eignet er sich deshalb gut als Biomarker für Therapiestudien und individuelle Krankheitsverläufe.

Die Wechselbeziehung zwischen Demyelination Load und Hirnfunktion hat zudem den Wert des Demyelination Loads als prognostisches Instrument für die spätere Entwicklung motorischer und kognitiver Symptome belegt. Dies kann in Zukunft für eine bessere Beratung und Vorbereitung der Patienten und Angehörigen auf den kommenden Krankheitsverlauf genutzt werden.

Der Demyelination Load ist aus den genannten Gründen auch hilfreich für Therapieentscheidungen und Therapieverlaufsstudien. Dabei muss das Anwen-

dungsgebiet nicht auf die MLD beschränkt bleiben. Prinzipiell eignet er sich auch als MRT-Parameter für andere neurodegenerative Erkrankungen der weißen Substanz (Groeschel et al. 2014).

Somit wurde mit dem Demyelination Load ein nützlicher Surrogatparameter für die juvenile MLD etabliert. Seine Vorteile legen auch nahe, dass die Untersuchung weiterer, noch spezifischerer MRT-Parameter wie z.B. der Diffusionsgewichteten Bildgebung vielversprechend und notwendig ist (Groeschel et al. 2013).

4.4 Bestimmung des Demyelination Loads zur Prognose des natürlichen Krankheitsverlaufes

Die MLD verläuft bei juvenilen Patienten sehr variabel. Dies betrifft sowohl die Ausprägung bestimmter Symptome als auch die Dynamik des Krankheitsprogresses. So gibt es neben den Kindern, die sehr schnell nach Erkrankungsbeginn schwere neurologische Symptome entwickeln, auch solche Patienten, die einen protrahierten Verlauf bis ins Erwachsenenalter durchleben. Diese weisen teilweise auch noch im Alter von 20 Jahren keine oder nur geringe motorische Auffälligkeiten auf (GMFC-MLD-Score 0 und 1) (Estrov et al. 2000, Rauschka et al. 2006, Kehrer et al. 2011b).

Aufgrund der Seltenheit der Erkrankung, Komplexität der Klinik und der vielen möglichen Differentialdiagnosen kommt erschwerend hinzu, dass häufig eine lange Zeit bis zur Diagnosestellung vergeht. Kehrer et al. fanden für juvenile Patienten eine durchschnittliche Dauer von 21 Monaten vom ersten Auftreten der Symptome bis zur Diagnose (Kehrer et al. 2014).

Daher ist es wichtig, möglichst schnell zu erkennen, bei welchen Patienten ein rascher Abbau des Allgemeinzustandes (motorisch und kognitiv) eintreten wird und bei wem die Erkrankung eher langsam und protrahiert fortschreitet. Diese Information ist einerseits für die Erkrankten selbst, aber auch für die Angehörigen und Familien von Bedeutung. Zudem ist die Klassifizierung des weiteren Krankheitsverlaufes relevant für die Evaluierung von Therapieoptionen; die

Stammzelltransplantation ist besonders effektiv, wenn sie in einem frühen Krankheitsstadium durchgeführt wird (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2010, Groeschel et al. 2013, Krägeloh-Mann et al. 2013, van Egmond et al. 2013). Das Wissen um die Dynamik des weiteren Krankheitsverlaufes könnte so zur Therapieabwägung genutzt werden.

4.4.1 Prädiktiver Wert der verschiedenen MRT-Parameter für den natürlichen Krankheitsverlauf

Zur Untersuchung des prädiktiven Wertes der verschiedenen MRT-Parameter für den weiteren Krankheitsverlauf wurden 15 nicht-transplantierte Patienten retrospektiv in die Gruppen „rasch“ (7) und „langsam progredient“ (8) eingeteilt. Anschließend wurde die Demyelinisierung der Patienten retrospektiv zu einem Zeitpunkt, der möglichst nahe an der Diagnosestellung lag, quantifiziert. Der Verlust des selbstständigen Gehens (GMFC-MLD-Score 2) wurde als Beginn eines schnellen und unaufhaltsamen Fortschreitens der MLD-Symptomatik ausgemacht (Kehrer et al. 2011b, Groeschel et al. 2014). Kehrer et al. publizierten für die Zeit, welche beim Übergang von GMFC-MLD-Score 1 bis 2 bei juvenilen Patienten vergeht, einen Median von 27 Monaten (Kehrer et al. 2011b). Daher wurden die Patienten anhand dieser Zeitspanne als „rasch“ bzw. „langsam progredient“ klassifiziert (ausführliche Einteilungskriterien s. 2.6.1 u. Strölin et al. 2017).

Dabei konnte für den MRI-Score und das Hirnvolumen kein signifikanter Unterschied der beiden Patientengruppen festgestellt werden. Während das Hirnvolumen zwischen den Gruppen vergleichbare Werte aufwies, waren im MRI-Score zumindest tendenzielle Unterschiede zu erkennen: Wie erwartet, hatten „langsam“ progrediente Patienten niedrigere MRI-Scores als „rasch“ progrediente. Der Unterschied war zwar gering ausgeprägt, allerdings nahmen „langsam“ progrediente Patienten in der Regel MRI-Scorepunkte in Bereichen unter denen der „rasch“ progredienten Patienten an (s. Abb. 26). Nichtsdestotrotz offenbarten die Ergebnisse, dass sich die Parameter MRI-Score und Hirnvolumen nicht für die Prognostik des natürlichen Verlaufes bei juvenilen MLD Pati-

enten eignen; wenngleich auch bereits gefunden wurde, dass der MRI-Score mit der Dauer der Erkrankung ansteigt (Groeschel et al. 2011).

Im Gegensatz dazu fanden sich für den Demyelination Load ($\Delta=-56,6\text{ml}$; $p=0,002$) und dem Quotient aus Demyelination Load und Hirnvolumen ($\Delta=-0,056$; $p=0,003$) signifikant niedrigere Werte bei den „langsam“ progredienten Patienten (s. Tab. 17; s. auch Strölin et al. 2016, Strölin et al. 2017). Ab einem Demyelination Load von 108ml scheint man dabei mit einem raschen Progress der Krankheit innerhalb 27 Monaten rechnen zu müssen. Denn Patienten mit Demyelination-Load Werten über 108ml wiesen, bis auf eine Ausnahme, ausnahmslos rasch progrediente Verläufe auf (s. Abb. 26).

Der Demyelination Load und vor allem der durch das Hirnvolumen korrigierte Demyelination Load erwies sich somit als ein sensibler prädiktiver Parameter für die Früherkennung von „rasch progredienten“ (d.h. innerhalb von 27 Monaten), schweren Krankheitsverläufen.

4.4.2 Prädiktiver Wert der Lokalisation des Demyelination Loads für den natürlichen Krankheitsverlauf

Durch das VLSM wurde der Zusammenhang zwischen Demyelinisierungsort und Schwere des natürlichen Krankheitsverlaufes überprüft (siehe Abb. 27). Dabei war deutlich zu erkennen, dass hauptsächlich der Befall der U-Fasern in der Zentralregion für den raschen Krankheitsprogress innerhalb von 27 Monaten verantwortlich zu sein scheint (s. auch Strölin et al. 2017). Diese Region zeigte sich in der vorliegenden Analyse als deutlich und früh im Verlauf betroffen, falls der spätere Krankheitsverlauf rasch progredient war. Darüber hinaus konnten Groeschel et al. den Befall der U-Fasern dieses Areals, unter Zuhilfenahme des MRI-Scores, zusätzlich mit starker motorischer Einschränkung in Verbindung bringen (Groeschel et al. 2011). Diese Beobachtungen passen gut zu der Theorie, dass die Ausbildung massiver motorischer Symptome mit der Verschlechterung des Gesamtzustandes der Patienten einhergeht und insbesondere der Wechsel von GMFC-MLD-Score 1 auf 2 den Beginn eines raschen Krankheitsprogresses markiert.

Die starke und frühe Mitbeteiligung der U-Fasern der Zentralregion war somit prädiktiv für einen raschen Krankheitsprogress innerhalb von 27 Monaten. Mithilfe von weiteren MRT-Parametern, wie beispielsweise Diffusions-Tensor-Bildgebung oder DWI-Sequenzen, kann vermutlich eine noch genauere Lokalisation der pathologischen Prozesse gelingen. Schon jetzt können die gewonnenen Erkenntnisse aber als Unterscheidungskriterium zwischen sehr rasch ablaufenden und protrahierten Krankheitsverläufen im MRT genutzt werden. Dabei würde sich beispielsweise auch die Verwendung von Demyelination Load-Masken eignen. Diese könnten als Mustervorlage über den vorliegenden MRT-Befund gelegt werden und so zur einfacheren Diagnostik beitragen.

Durch die Kombination aus Lokalisationsanalyse und quantitativer Bestimmung des Demyelination Loads ergibt sich ein großer prädiktiver Nutzen: Patienten- und Familienberatungen können eine genauere Vorstellung von dem weiteren Verlauf der Erkrankung vermitteln. Angehörige haben die Möglichkeiten sich emotional auf die kommenden Entwicklungen einzustellen und auf einen raschen Krankheitsprogress vorzubereiten. Dies hat auch für die Planung der weiteren Betreuung und Pflege in medizinischen und schulischen Einrichtungen Vorteile.

Von großer Relevanz kann die Vorhersagekraft des Demyelination Loads und der Lokalisationsanalyse für den weiteren klinischen Verlauf insbesondere bei der Entscheidung über eine Stammzelltransplantation sein. Es wurde postuliert, dass es 12-24 Monate dauern kann, bis die Stammzellen nach der Transplantation ihre Funktion effektiv aufnehmen (Biffi et al. 2008, Rovelli 2008). Falls prädiktiv ein rascher Progress der Erkrankung zu erwarten ist, sollte die Indikation zur Stammzelltransplantation erneut überdacht werden. Es ist daher sinnvoll, den Demyelination Load als quantitativen Parameter und das räumliche Verteilungsmuster der Demyelinisierung gemeinsam in die Kriterien zur Indikationsstellung der Stammzelltransplantation bei juveniler MLD aufzunehmen.

4.5 Messung von Therapieeffekten der Stammzelltransplantation mittels MRT

Momentan stellt die Stammzelltransplantation die einzige verfügbare Therapieoption bei juveniler MLD dar. Trotz jahrelanger praktischer Erfahrung wird ihr tatsächlicher Erfolg weiter kritisch in der Literatur diskutiert. So wurden Patienten beschrieben, die unbefriedigende Ergebnisse nach der Transplantation aufwiesen (Smith et al. 2010, de Hosson et al. 2011). Diese Patienten befanden sich allerdings zum Transplantationszeitpunkt schon in einem fortgeschrittenen Krankheitsstadium. Daher wird davon ausgegangen, dass die Stammzelltransplantation besonders effektiv bei juvenilen und adulten Patienten, welche noch keine oder nur milde Symptome aufweisen, wirkt (Kidd et al. 1998, Krivit et al. 1999, Görg et al. 2007). Kehrer et al. rieten daher, Transplantationen zeitlich deutlich vor dem Verlust des selbstständigen Gehens durchzuführen (Kehrer et al. 2011b).

Ein Grund für die Unklarheit über den Effekt der Stammzelltransplantation liegt darin, dass v.a. juvenile Patienten sehr variable Krankheitsverläufe aufweisen. Es ist daher nicht immer eindeutig möglich die klinischen und morphologischen Entwicklungen auf Erfolg oder Misserfolg der Transplantation zu beziehen (Gieselmann und Krägeloh-Mann 2014). Um dies zu berücksichtigen, wurde hier die Entwicklung der Hirnveränderungen der transplantierten Patienten einer großen Referenzkohorte von nicht-transplantierten Patienten gegenübergestellt.

Eine zweite Ursache für die mangelhafte Beurteilung des Transplantationserfolges liegt darin, dass bisher gute Parameter zur Verlaufsbeschreibung der Hirnveränderungen fehlten.

4.5.1 Effekte der Stammzelltransplantation in der MRT-Diagnostik

Bei transplantierten Patienten verbesserte oder stabilisierte sich der MRI-Score nach der Stammzelltransplantation mit der Latenz von einigen Monaten (s. Abb. 28). Unbehandelte Patienten hingegen verschlechterten sich mit der Zeit und

erreichten insgesamt höhere MRI-Scores. Dies spricht zunächst für die erhoffte Wirkung der Transplantation auf die demyelinisierenden Prozesse im Gehirn.

Auffällig war, dass die MRI-Scores der meisten Patienten im Zeitraum um den Krankheitsbeginn anstiegen (Abb. 32). Diese Beobachtung könnte darauf hinweisen, dass es zu einem Schub der Demyelinisierung im Gehirn kommt, welcher in Zusammenhang mit dem Ausbruch der Symptomatik steht. Da viele Patienten ihren ersten MRT-Scan allerdings nach Krankheitsausbruch erhielten, konnte dies hier nicht exakt nachvollzogen werden. In den folgenden Jahren nach Erkrankungsbeginn stabilisierten sich die MRI-Scores der transplantierten Patienten (s. Abb. 32). Sehr eindeutig war der Einfluss der Stammzelltransplantation in Abbildung 36 zu erkennen: Unmittelbar nach der Transplantation stieg der MRI-Score in der Regel zunächst an. Ungefähr 1-2,5 Jahre nach der Intervention stabilisierten sich die Werte bei den meisten Patienten jedoch. Die Ausgangswerte vor der Transplantation konnten aber nicht wieder erreicht werden.

Somit kann anhand der vorliegenden Daten von einer deutlichen Stabilisierung des MRI-Scores unter Transplantation gesprochen werden. Allerdings muss dieser Eindruck durch die Tatsache relativiert werden, dass sich die transplantierten und nicht-transplantierten Patienten zum Zeitpunkt der letzten MRT-Untersuchung im MRI-Score nicht unterschieden. So scheint für den individuellen Verlauf eine stabilisierende Wirkung der Stammzelltransplantation zu bestehen. Insgesamt führt sie aber nicht zu signifikant niedrigeren Werten der behandelten Patienten.

Der positive Effekt der Stammzelltransplantation ließ sich auch durch eine deutliche Senkung des Demyelination Loads belegen. So blieb der Demyelination Load bei der Mehrzahl der transplantierten Patienten stabil oder er sank sogar unter den Ausgangswert (s. Abb. 29, 30, 37 u. 38). Nicht-transplantierte Patienten wiesen zunächst weiter ansteigende Werte auf, wobei im späten Verlauf auch bei diesen Patienten leicht abnehmende Demyelination Load-Werte zu beobachten waren (s. Anhang Abb. 43). Dies deutet daraufhin, dass auch im natürlichen Krankheitsverlauf eine Abnahme des Demyelination Loads möglich sein kann. Im Vergleich zu den transplantierten Patienten war sie jedoch

schwächer ausgeprägt und wurde erst im fortgeschrittenen Krankheitsverlauf beobachtet. Bei der Bewertung dieser Abnahme des Demyelination Loads müssen daher die pathologischen Prozesse des späten Krankheitsverlaufs (z.B. Abnahme des Hirnvolumens) berücksichtigt werden. Eindeutiger konnte der Einfluss der Stammzelltransplantation auf die Hirnveränderungen anhand des zeitlichen Verlaufes des korrigierten Demyelination Loads veranschaulicht werden. Hier wiesen die nicht-transplantierten Patienten im Mittel mit dem Alter ansteigende Werte des Quotienten aus Demyelination Load und Hirnvolumen auf. Bei fast allen transplantierten Patienten lag er zum Beobachtungsende aber unterhalb des Vertrauensintervalls der Mittelwerte der Vergleichskohorte (s. Abb. 30). Analog zum MRI-Score stieg auch der Demyelination Load um den Zeitpunkt des Symptombeginns an (s. Abb. 33 u. 34). Dies bestärkt die Theorie von einem Schub der Demyelinisierung zur Zeit des Symptombeginns. Wenige Jahre nach dem Onset sanken die Demyelination Load-Werte der transplantierten Patienten in der Regel stark ab. Da nicht-transplantierte Patienten erst viele Jahre nach Symptombeginn eine Abnahme des Demyelination Loads aufwiesen (s. Anhang Abb. 47 u. 48) und einzelne Patienten auch nach 15 bzw. 27,5 Jahren nicht deutlich unter den Wert zu Beobachtungsbeginn gesunken waren, kann man den eindeutig besseren Verlauf der transplantierten Patienten auf die Stammzelltransplantation zurückführen.

Sehr interessant war zudem, dass die meisten Patienten unmittelbar nach der Transplantation zunächst zunehmende Hirnveränderungen und damit ansteigende Demyelination Load-Werte entwickelten (s. Abb. 37 u. 38). Die verzögerte Dauer bis zum Einsetzen der Wirkung der Stammzelltransplantation lag in der Folgezeit bei ca. einem Jahr. Nach dieser Zeit konnte ein weiterer Progress der Demyelinisierung gestoppt werden. 2-2,5 Jahre nach der Transplantation war der Demyelination Load dann deutlich gesunken und nahm auch in der Folgezeit weiter ab.

Der erfolgreiche Einfluss der Stammzelltransplantation auf die Hirnveränderungen ließ sich durch den Vergleich des Demyelination Load-Outcomes der beiden Patientengruppen bestätigen: Zum letzten Untersuchungszeitpunkt unterschieden sich transplantierte und nicht-transplantierte Patienten signifikant im

Demyelination Load ($\Delta=-56,1\text{ml}$; $p<0,001$) und dem Quotienten ($\Delta=-0,062$; $p<0,0001$) voneinander (s. Abb. 40). Der Demyelination Load (und v.a. der Quotient aus Demyelination Load und Hirnvolumen) konnte somit den erhofften Effekt der Stammzelltransplantation belegen. Er eignet sich zudem zur individuellen Verlaufsbeschreibung der Demyelinisierungsveränderungen unter dem Einfluss der Stammzelltransplantation.

Die Auswertungen haben darüber hinaus gezeigt, dass bei fast allen Patienten mit zunehmender Krankheitsdauer eine deutliche Abnahme des Hirnvolumens eintrat (siehe Abb. 31). Um den Zeitpunkt des Krankheits-Onset nahm das Hirnvolumen einiger transplantierten und nicht-transplantierten Patienten dabei etwas steiler ab als dies im weiteren Verlauf der Fall war (s. Abb. 35 u. Anhang Abb. 49).

Auch im Anschluss an die Stammzelltransplantation fiel das Hirnvolumen in der Regel zunächst ab (s. Abb. 39). Dies verstärkt den Eindruck einer zunächst einsetzenden Zunahme der Hirnveränderungen als Reaktion auf die Transplantation. Anschließend konnten die transplantierten Patienten ihre Werte jedoch für mehrere Jahre stabilisieren und wiesen damit im Vergleich zum natürlichen Krankheitsverlauf einen protrahierten Progress auf (s. Anhang Abb. 49). Die Verzögerung der Abnahme scheint jedoch keinen Einfluss auf die langfristige Entwicklung des Hirnvolumens zu haben. Nach Abschluss der Beobachtung entstand durch die Stammzelltransplantation bezüglich des Hirnvolumens kein signifikanter Vorteil für die transplantierten Patienten.

4.5.2 Demyelination Load zur Verlaufsbeschreibung nach Stammzelltransplantation

Die Ergebnisse haben gezeigt, dass der Demyelination Load (korrigiert durch das Hirnvolumen) bei transplantierten Kindern nach der Stammzelltransplantation nicht nur stabil, sondern sogar rückläufig war. Im Gegensatz dazu stieg der Demyelination Load bei Patienten ohne Transplantation mit dem Alter weiter an. Auch in der Betrachtung des Outcomes mindestens 2 Jahre nach der Stammzelltransplantation unterschieden sich transplantierte und nicht-transplantierte

Patienten signifikant voneinander im Demyelination Load und dem durch das Hirnvolumen korrigierten Demyelination Load. Somit konnte der erhoffte Effekt der Transplantation beobachtet werden: Sie führt zu einer deutlichen Verringerung der Demyelinisierungen im ZNS. Ähnliches wurden bereits an anderer Stelle vermutet, jedoch fehlte bisher der Vergleich transplanteder juveniler Patienten an einer großen Patientenkohorte mit natürlichem Krankheitsverlauf (Krägeloh-Mann et al. 2013, van Egmond et al. 2013).

Die Bestimmung des Demyelination Loads war dabei von größerer diagnostischer Wertigkeit als die des MRI-Scores und Hirnvolumens. Beide Parameter unterschieden sich zu Beobachtungsende nicht zwischen den Therapiegruppen. Zudem war der Demyelination Load im Vergleich zum MRI-Score ein sensitiverer Parameter für die Detektion von Hirnveränderungen im Krankheitsverlauf. Dies ist besonders für die Beurteilung intraindividuelle Entwicklungen von Bedeutung. Die Überlegenheit des Demyelination Loads gegenüber dem MRI-Score in der Überwachung des Transplantationserfolges hatte sich in den Arbeiten von Krägeloh-Mann et al. und van Egmond et al. bereits angedeutet und konnte hier bestätigt werden (Krägeloh-Mann et al. 2013, van Egmond et al. 2013).

In den bisherigen Arbeiten wurde die Wirkung der Stammzelltransplantation auf die Hirnveränderungen juveniler Patienten anhand von Einzelfallstudien ausgewertet. Boucher et al. untersuchten kürzlich eine größere Anzahl transplanteder MLD-Patienten (Boucher et al. 2015). Dabei konnte ebenfalls ein therapeutischer Effekt der Transplantation festgestellt werden, allerdings fehlte der Vergleich mit einer Patientenkohorte des natürlichen Krankheitsverlaufes (Boucher et al. 2015). Der Rückgang der Demyelinisierung belegt einerseits den Wirkerfolg der Stammzelltransplantation, andererseits bestätigt er dadurch auch das aktuelle Verständnis der Pathogenese der MLD. Durch die gezeigte Korrelation von Demyelination Load und MLD-Klinik kann mit dem Rückgang der Demyelinisierung auch von einer Besserung der motorischen und kognitiven Symptomatik ausgegangen werden. Van Egmond et al. fanden bei ihrer Fallstudie eine besonders die motorische Funktion betreffende Verbesserung der Symptomatik in Folge der Transplantation (van Egmond et al. 2013). Die

Demyelinisierung wurde somit in direkten Zusammenhang mit der Entstehung und dem Rückgang klinischer Symptome gebracht.

Eine zweite relevante Erkenntnis war, dass sich unmittelbar nach einer Stammzelltransplantation alle gemessenen MRT-Parameter verschlechterten. Im Anschluss an diese initiale Reaktion folgte bei vielen Patienten eine Phase der deutlichen Verbesserung der Hirnveränderungen. Dies bestärkt auch die Beobachtungen anderer aktueller Studien (Krägeloh-Mann et al. 2013, van Egmond et al. 2013, Boucher et al. 2015). Die Gründe für die transplantationsbedingte Zunahme der Demyelinisierung sind noch nicht vollständig geklärt. Die Abgrenzung zu einer natürlichen Entwicklung, die auch ohne Transplantation stattgefunden hätte, gestaltet sich schwierig. Die zusammenhangslose Zunahme von MRI-Score, Demyelination Load und zeitgleiche Abnahme des Hirnvolumens sind allerdings als unwahrscheinlich anzusehen. Vermutlich dienen von der Stammzelltransplantation ausgelöste zelluläre Prozesse im ZNS zumindest teilweise als Trigger für eine reaktive Zunahme der demyelinisierenden Vorgänge.

Im Anschluss verging einige Zeit bis dieser Effekt wieder aufgehoben wurde. Der in dieser Arbeit beobachtete Zeitraum von 1-2 Jahren bis zum Eintritt der therapeutischen Wirkung wurde auch von Krägeloh-Mann et al. beschrieben (Krägeloh-Mann et al. 2013). Die Kombination aus dem Risiko der möglichen Hirnveränderungszunahme und der langen Zeitspanne bis zum Wirkeintritt unterstreicht die Wichtigkeit einer prätherapeutischen Prognostik über den absehbaren Erfolg der Stammzelltransplantation.

Der Demyelination Load hat sich damit nicht nur als hilfreicher Parameter für die Prognostik und Überwachung des klinischen Krankheitsverlaufes, sondern auch als nützlicher intra- und interindividueller Verlaufsmarker nach Stammzelltransplantation erwiesen. Da die Demyelinisierung in Folge der Stammzelltransplantation verringert wurde, erwies sie sich als prinzipiell geeigneter Therapieansatz um die krankheitsverursachenden Mechanismen der MLD zu bekämpfen. In Zukunft wird es daher besonders darauf ankommen ihre Wirkung

zu optimieren und zu verstärken. Dies wurde beispielsweise von Biffi et al. kürzlich in Studien zur Gentherapie erfolgreich umgesetzt (Biffi et al. 2013).

Risiken und Benefit der Stammzelltransplantation müssen vorsichtig gegeneinander abgewogen werden. Daher werden verlässliche Parameter zur Prognose über das Therapieansprechen oder –versagen benötigt. Aufgrund seiner Sensitivität für die Detektion von Hirnveränderungen unter Stammzelltransplantation kommt dem Demyelination Load bereits vor der Transplantation eine hohe prognostische Aussagekraft über das Therapie-Outcome der einzelnen Patienten zu.

4.6 Demyelination Load als prädiktiver Marker des Patienten-Outcomes nach Stammzelltransplantation

Eines der Hauptziele dieser Arbeit war, die Entscheidung zur Durchführung einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation zu erleichtern. Die Gefahren der Transplantation müssen sorgfältig gegenüber dem erhofften Nutzen abgewogen werden, da die Eingriffe mit ernststen Komplikationen verbunden sein können. Besonders die immunsuppressive Behandlung im Vorfeld der Transplantation ist mit Risiken für die Gesundheit der Patienten verbunden. Ferner haben einzelne Studien gezeigt, dass nicht immer ein Vorteil durch die Transplantation entstehen muss (Smith et al. 2010, de Hosson et al. 2011). Dabei muss zudem berücksichtigt werden, dass viele Patienten, die über lange Sicht von der Transplantation profitieren, trotzdem zunächst neurologischen und morphologischen Verschlechterungen des Krankheitsbildes ausgesetzt sind (siehe 4.5.2). Vor der Transplantation muss also eine mögliche Zunahme der Symptomatik in Betracht gezogen werden.

Auf der anderen Seite entstehen durch die Stammzelltransplantation für viele Patienten entscheidende Vorteile. Durch die Transplantation kann der klinische Krankheitsprogress protrazierter, milder und damit deutlich abweichend vom natürlichen Verlauf ausfallen (Groeschel et al. 2013). Zudem hat diese Arbeit gezeigt, dass die Transplantation den Fortschritt der demyelinisierenden Pro-

zesse im ZNS abschwächen kann und der Demyelination Load in der Folge teilweise rückläufig war (s. 4.5).

Die zentrale Frage im Hinblick auf die Therapieentscheidung ist demnach, welche Patienten von einer Stammzelltransplantation profitieren.

Es wird allgemein angenommen, dass für Patienten dann ein Vorteil durch die Therapie entsteht, wenn sie in einem frühen Krankheitsstadium transplantiert werden (Kidd et al. 1998, Krivit et al. 1999, Görg et al. 2007, Groeschel et al. 2013). Es scheint besonders sinnvoll zu sein eine Transplantation vor dem Verlust des selbstständigen Gehens (GMFC-MLD-Score 2) anzustreben, da daraufhin ein rascher Krankheitsprogress einsetzt (Kehrer et al. 2011b, Groeschel et al. 2014). Zudem muss berücksichtigt werden, dass die Transplantation 1-2 Jahre benötigt, um ihre Wirkung zu entfalten (s. Abb. 36 u. 30).

Die retrospektive Quantifizierung der MRT-Parameter vor der Transplantation konnte zeigen, dass eine prädiktive Aussage über deren Erfolg möglich ist. Patienten, die sich mindestens 2 Jahre nach der Transplantation stabilisiert hatten, wiesen im Mittel deutlich niedrigere MRI-Scores vor der Intervention auf, als dies bei denjenigen mit Krankheitsprogress der Fall war ($\Delta=-8,9$; $p=0,011$). Auch Groeschel et al. beobachteten niedrigere MRI-Scores bei MLD-Patienten mit Transplantationsbenefit (Groeschel et al. 2013). Die stabilisierten Patienten erreichten im Mittel deutlich niedrigere MRI-Scores im Vergleich zu Patienten mit Progress der Erkrankung (s. Tab. 20). Aufgrund der hohen Werte, die auch bei profitierenden Patienten vorkommen können, ist es schwierig anhand des MRI-Scores einen Erfolg der Transplantation im Voraus auszuschließen. Ein Progress der Erkrankung trotz Stammzelltransplantation war jedoch erst ab relativ hohen MRI-Scores zu beobachten (mind. MRI-Score 12; s. Abb. 41a). Der Erkrankungsfortschritt trotz Transplantation ist bei geringen MRI-Scores vor der Therapie also unwahrscheinlich.

Deutlicher unterschieden sich die Patienten vor der Transplantation im Demyelination Load ($\Delta=-62,7\text{ml}$; $p=0,015$) bzw. dem korrigierten Demyelination Load ($\Delta=-0,062$; $p=0,02$). Bei stabilisierten Patienten wurden signifikant geringere Demyelination Load-Werte im Gegensatz zu nicht profitierenden Patienten

gemessen (s. Abb. 41b u. c). Da der maximale Demyelination Load der profitierenden Patienten bis auf eine Ausnahme vor der Transplantation bei ca. 50ml lag, kann ein Vorteil für Patienten mit höheren prätherapeutischen Werten zumindest in Frage gestellt werden (s. Abb. 41b). Der Krankheitsprogress nach Transplantation war folglich auch mit deutlich höherem (korrigiertem) Demyelination Load assoziiert. Dabei ist zu beachten, dass auch ein Patient trotz sehr hohem prätherapeutischem Demyelination Load dennoch profitierte und umgekehrt ein Patient mit geringen Werten einen Progress der Krankheit erlebte. Somit ist es schwierig absolute Aussagen über das Therapie-Outcome zu treffen. Deutlich erkennbar war allerdings, dass Patienten mit posttransplantatorischem Krankheitsfortschritt im Mittel vielfach höhere Demyelination Load Werte aufwiesen, als dies bei Patienten mit Krankheitsstabilisierung der Fall war (s. Tab. 20).

Das prätherapeutische Hirnvolumen unterschied sich unterdessen nicht zwischen Patienten mit Transplantationserfolg und -misserfolg (s. Tab. 20). Somit scheint es keinen Einfluss auf das Outcome nach Transplantation zu haben.

Die geschilderten Erkenntnisse könnten in Zukunft in den Entscheidungsprozess für oder gegen eine Stammzelltransplantation einfließen. Es muss dabei abgeschätzt werden, ob der wahrscheinliche Nutzen die Risiken der Transplantation überwiegt. Bei dieser Therapieevaluation kann der Einbezug der MRT-Parameter von Nutzen sein. Bisher fehlt es an klaren Ein- und Ausschlusskriterien. Es herrscht lediglich Konsens darüber, keine Transplantation bei bereits erkrankten spät-infantilen oder juvenilen Patienten mit schweren neurologischen und motorischen Symptomen durchzuführen (Sevin et al. 2007, Gieselmann 2008, Kehrer et al. 2011b). Besonders das Bestreben, die Transplantationen vor Erreichen des GMFC-MLD-Levels 2 durchzuführen, scheint ein sinnvolles Kriterium zur Therapieabwägung zu sein. Ebenso sollte eine Stammzelltransplantation ab bestimmten Demyelination Load-Cut-Off Werten (z.B. 50ml) vermieden werden. In jedem Fall muss eine Dauer von mindestens einem Jahr bis zum Eintritt der Transplantationswirkung berücksichtigt werden.

Der Demyelination Load ist ein sensitiver prognostischer Parameter für den Erfolg oder Misserfolg der Stammzelltransplantation. Dies lässt darauf hoffen, dass die Untersuchung weiterer MRT-Parameter (z.B. Schichtdickenvolumetrie und DWI-MRT) ebenfalls vielversprechende Erkenntnisse über das individuelle Ansprechen der Patienten auf verschiedene Therapieoptionen liefern kann. Bis dahin ist der Demyelination Load ein Biomarker mit hoher prädiktiver Wertigkeit für das posttransplantatorische Therapie-Outcome und dabei besonders im Vergleich zum MRI-Score ein sensitiver MRT-Parameter.

4.7 Einordnung des Demyelination Loads in die MRT-Diagnostik bei MLD und Schlussfolgerung

Die Erforschung der metachromatischen Leukodystrophie hat in den letzten Jahren große Fortschritte gemacht. Stetig verfeinerte Möglichkeiten der MRT-Diagnostik machten diese Arbeit und damit das bessere Verständnis der Pathomechanismen erst möglich. Die ausführliche Evaluierung der MRT-Parameter MRI-Score, Demyelination Load und Hirnvolumen kann dazu beitragen den Wissensstand weiter zu vergrößern.

Vor allem der Demyelination Load (korrigiert durch das Hirnvolumen) erlaubt als sensitiver und intraindividueller MRT-Parameter die Verlaufsbeschreibung und -überwachung der variablen juvenilen MLD-Verläufe. Seine Vorhersagekraft für das Auftreten motorischer und kognitiver Symptome sowie für den Schweregrad des weiteren natürlichen Progresses macht ihn zum wertvollen Biomarker für das Krankheitsmanagement der Patienten (s. auch Strölin et al. 2017). Dies betrifft auch die Planung der Familien und Angehörigen für die weitere Betreuung ihrer erkrankten Kinder.

Darüber hinaus wurde die Stammzelltransplantation als wirksame Therapieintervention bestätigt. Im MRT konnte mithilfe des Demyelination Loads ein deutlicher Effekt der Intervention beobachtet werden. Der Demyelination Load erwies sich dabei als geeignetes Messinstrument zur Evaluation der Stammzelltransplantation. Die Weiterentwicklung und Optimierung des Therapieansatzes

der Stammzelltransplantation, beispielsweise im Rahmen der Gentherapie, lässt daher auf eine vielversprechende Alternative hoffen. Von klinischer Relevanz ist zudem, dass der Demyelination Load prätherapeutische Aussagen über den Erfolg der Transplantation treffen kann. Somit stellt er künftig als Surrogatparameter ein mögliches Kriterium für die Indikationsstellung der Stammzelltransplantation dar.

Die Auswertung der Lesion-Symptom Maps konnte zeigen, dass auch die Lokalisation der Demyelinisierungen verantwortlich für die MLD-typischen Symptome ist (s. auch Strölin et al. 2017). Damit wurde einerseits ein weiteres diagnostisches Werkzeug gefunden und andererseits die Demyelinisierung als krankheitsverursachende Komponente des Pathomechanismus bestätigt. Das weitere Verständnis der krankheitsverursachenden Prozesse ist von essentieller Bedeutung für die Erforschung neuer Therapieansätze.

Trotz der erfreulichen Ergebnisse müssen auch die Limitierungen dieser Arbeit berücksichtigt werden. Die T2-Aufnahmen waren in einzelnen Fällen von mangelhafter Qualität oder nur gering aufgelöst. Zudem waren nicht für alle Datensätze ergänzende T1- oder Flair-Bilder vorhanden, wodurch die Segmentierungsqualität der Software Clusterize eingeschränkt gewesen sein konnte. Um Ungenauigkeiten auszugleichen, erfolgte daher in den meisten Fällen eine manuelle Segmentierung, was dem aktuellen Goldstandard entspricht (Rorden und Karnath 2004, Seghier et al. 2008). Die sehr hohe Intrarater-Reliabilität und die Interrater-Kontrolle durch einen erfahrenen Neuropädiater (Dr. S.G.) gewährleisteten dennoch eine hinreichend exakte Quantifizierung der Hirnveränderungen.

Die unterschiedliche Qualität der MRT-Datensätze wirkte sich auch auf die automatisierte Berechnung des Hirnvolumens und die Erstellung der Lesion-Symptom Maps aus. Durch visuelle Qualitätskontrolle konnte jedoch sichergestellt werden, dass nur erfolgreich bearbeitete Bilder eingeschlossen wurden. Ergänzend muss die Seltenheit der Erkrankung mitberücksichtigt werden. Unterschiede in der Aufnahmetechnik durch verschiedene MRT-Scanner und Sequenzen sind dadurch kaum zu vermeiden.

Der Demyelination Load wird in Zukunft als Biomarker hoffentlich dazu beitragen die Prognostik, Verlaufsüberwachung, Therapieevaluation und das Verständnis des Pathomechanismus der Metachromatischen Leukodystrophie weiter voranzutreiben. Die vorliegenden Funde verdeutlichen, dass die Diagnostik anhand unterschiedlicher MRT-Parameter einen vielversprechenden Ansatz für die zukünftige Erforschung der MLD und anderer neurodegenerativer ZNS-Erkrankungen darstellt.

Multiparametrische und spezialisierte MRT-Diagnostik (z.B. myelinspezifische MRT-Parameter) sind hierbei besonders vielversprechend, da davon ausgegangen wird, dass die Lipidakkumulation nicht nur in Oligodendrozyten und Schwann-Zellen, sondern auch in neuronalen Zellen zu Dysfunktionen führt (Peng und Suzuki 1987, Gieselmann und Krägeloh-Mann 2010). Somit wäre die Demyelinisierung bei MLD nur ein Teil der pathologischen Prozesse, beziehungsweise das Produkt verschiedener struktureller Hirnveränderungen. Diese sekundären Hirnveränderungen, wie beispielsweise Diffusionsstörungen, neuronale Prozesse, kortikale Schichtatrophien, Atrophien der grauen und weißen Substanz sowie andere mikrostrukturelle Prozesse, sollten auf ihren Krankheitswert hin untersucht werden. Potenziell könnten sie ebenso zur Entstehung der MLD beitragen wie die Demyelinisierung der weißen Substanz.

Daher wird die Untersuchung neuer MRT-Parameter und MRT-basierter Methodiken unser Verständnis für die Prozesse, die zur Ausprägung des MLD-typischen Krankheitsbildes führen, weiter vorantreiben. Während sich Groeschel et al. bereits mit der GM- und WM-Volumetrie beschäftigten (Groeschel et al. 2012), fokussierten sich aktuellere Arbeiten besonders auf die Messung von kortikalen Schichtdicken (Tillema et al. 2015). Als vielversprechende, sensitive Methodik für die Erforschung der Krankheitsentstehung gilt auch die Diffusionsgewichtete Magnetresonanztomographie und die Diffusions-Tensor-Bildgebung (Groeschel et al. 2013). Einen ebenfalls interessanten Ansatz stellen Myelin-spezifische Parameter dar, welche ein noch feineres Maß für demyelinisierende Prozesse als der Demyelination Load darstellen. Mittels MRT-Technik werden dabei die mikrostrukturellen Veränderungen quantifiziert,

die bei MLD-Patienten zu Abbauprozessen in der Myelinschicht führen (Groeschel et al. 2014).

Besonders auf dem Gebiet der MRT-Diagnostik konnten in den letzten Jahren viele neue Erkenntnisse gesammelt werden. Diese sollten als Bestätigung verstanden werden, weiter an den bereits gemachten Fortschritten zu arbeiten. Die immer besser werdenden technischen Möglichkeiten bieten dabei, nicht nur für die MLD, vielversprechende Ansätze um neurodegenerative Erkrankungen zu verstehen und letztendlich zu bekämpfen.

5 Zusammenfassung

Die Metachromatische Leukodystrophie (MLD) ist eine seltene Stoffwechselerkrankung, die zu einer fortschreitenden Demyelinisierung im ZNS und infolgedessen zu schweren neurologischen Symptomen führt. Für die rasch progrediente spät-infantile Form der MLD konnte bereits der Zusammenhang des Volumens der Demyelinisierung, gemessen im MRT als Demyelination Load (DL), mit der Krankheitsprogression gezeigt werden. Für die juvenile Form, die später beginnt und insgesamt langsamer voranschreitet, ist die klinische Bedeutung des DL bisher noch unklar und sollte in dieser Arbeit untersucht werden.

Daher war das erste Ziel dieser Dissertation, den DL der Kinder mit juveniler MLD mit deren motorischen und kognitiven Funktionen zu korrelieren. Dabei wurde die Hypothese geprüft, dass nicht nur das absolute Volumen der Demyelinisierung eine funktionelle Relevanz hat, sondern insbesondere auch die anatomische Verteilung des DL. Das zweite Ziel dieser Arbeit war zudem zu untersuchen, welchen Effekt die hämatopoetische Stammzelltransplantation (HSZT) auf die Veränderungen im Gehirn (DL und Hirnvolumen) hat. Besonderes Augenmerk lag dabei auf der prognostischen Aussagekraft des DL vor der Transplantation über den späteren Therapieerfolg.

Insgesamt wurden 137 MRT-Aufnahmen von 46 juvenilen Patienten retrospektiv ausgewertet. 11 dieser Patienten unterzogen sich im Verlauf einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation. Die MRT-Parameter Demyelination Load und Hirnvolumen wurden anhand der Matlab-Toolbox *clusterize* quantifiziert; der Zusammenhang von Läsionslokalisationen und der funktionellen Parameter (IQ, Sprache und Motorik-Score) konnte mithilfe von Voxel-based lesion-symptom mapping (VLSM) dargestellt werden.

Es konnte gezeigt werden, dass der DL signifikant mit dem IQ, der Sprachsymptomatik und dem Motorik-Score korreliert. Darüber hinaus fand sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Demyelination Load bei Diagnosestellung und dem Schweregrad des späteren Krankheitsverlaufs. Ebenso zeigte sich, dass die Lokalisation der Demyelinisierung signifikant mit der Symptomatik korreliert.

Die Auswertung des DL nach HSZT ergab im Beobachtungszeitraum für die transplantierten Patienten im Durchschnitt signifikant niedrigere Werte im Vergleich zu den Patienten, die keine HSZT erhielten. Es zeigte sich zudem ein Zusammenhang zwischen der Höhe des DL vor HSZT und dem späteren Therapie-Outcome. Patienten mit stabilisiertem Krankheitsverlauf nach HSZT wiesen dabei niedrigere DL-Werte vor der Transplantation auf als Patienten mit progredientem Krankheitsprogress.

Aus den Ergebnissen dieser Studie lässt sich schlussfolgern, dass der DL ein klinisch relevanter Biomarker für den Krankheitsverlauf von Patienten mit juveniler MLD ist. Dabei ist nicht nur die Höhe des DL, sondern auch seine topographische Verteilung klinisch-funktionell relevant.

Die Möglichkeit, durch die MRT-Bilder zum Zeitpunkt der Diagnosestellung eine prognostische Aussage über den weiteren natürlichen Verlauf zu treffen, ist dabei nicht nur für die Beratung der Familien wichtig, sondern auch für die Planung weiterer therapeutischer Interventionen von Bedeutung, da die HSZT wahrscheinlich eine gewisse Zeit benötigt, um effektiv zu werden.

Die Ergebnisse der Auswertung der Gehirnveränderungen nach HSZT weisen zudem auf einen insgesamt positiven Effekt der HSZT auf den DL hin. Die Höhe des DL vor HSZT war dabei von prognostischer Bedeutung für das spätere Outcome der Patienten. Dies kann in Zukunft als zusätzliches Kriterium für die Indikationsstellung zur HSZT genutzt werden.

Damit konnte diese Arbeit erstmals die klinisch-funktionelle Relevanz des DL für Patienten mit juveniler MLD aufzeigen. Die Ergebnisse liefern damit Referenzdaten und Erkenntnisse zur Gehirnmorphologie bei juveniler MLD sowie einen vielversprechenden Biomarker für weitere Untersuchungen zu Krankheitsverlauf und Therapieevaluation.

6 Literaturverzeichnis

Alzheimer, A. (1906). "Über einen eigenartigen schweren Erkrankungsprozess der Hirnrinde." *Neurologisches Zentralblatt* 23: 1129.

Amaducci, L., Sorbi, S., Piacentini, S. and Bick, K. L. (1991). "The first Alzheimer disease case: a metachromatic leukodystrophy?" *Dev Neurosci* 13(4-5): 186-187.

Arbour, L. T., Silver, K., Hechtman, P., Treacy, E. P. and Coulter-Mackie, M. B. (2000). "Variable onset of metachromatic leukodystrophy in a Vietnamese family." *Pediatr Neurol* 23: 173-176.

Ashburner, J. and Friston, K. J. (2005). "Unified segmentation." *Neuroimage* 26: 839-851.

Asheuer, M., Pflumio, F., Benhamida, S., Dubart-Kupperschmitt, A., Fouquet, F., Imai, Y., Aubourg, P. and Cartier, N. (2004). "Human CD34+ cells differentiate into microglia and express recombinant therapeutic protein." *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(10): 3557-3562.

Austin, J. H. (1959). "Metachromatic sulfatides in cerebral white matter and kidney." *Proc Soc Exp Biol Med* 100(2): 361-364.

Austin, J. H., Armstrong, D. and Shearer, L. (1965). "Metachromatic forms of diffuse cerebral sclerosis. V. The nature and significance of low sulfatase activity: A controlled study of brain, liver and kidney in four patients with metachromatic leukodystrophy (MLD)." *Arch Neurol* 13(6): 593-614.

Austin, J. H., Balasubramanian, A. S., Pattabiraman, T. N., Saraswathi, S., Basu, D. K. and Bachhawat, B. K. (1963). "A Controlled Study of Enzymic Activities in Three Human Disorders of Glycolipid Metabolism." *J Neurochem* 10: 805-816.

Barkovich, A. J. (2000). "Concepts of myelin and myelination in neuroradiology." *AJNR Am J Neuroradiol* 21(6): 1099-1109.

Bates, E., Wilson, S. M., Saygin, A. P., Dick, F., Sereno, M. I., Knight, R. T. and Dronkers, N. F. (2003). "Voxel-based lesion-symptom mapping." *Nat Neurosci* 6(5): 448-450.

Baum, H., Dodgson, K. S. and Spencer, B. (1959). "The assay of arylsulphatases A and B in human urine." *Clin Chim Acta* 4(3): 453-455.

Beratis, N. G., Aaron, A. M. and Hirschhorn, K. (1973). "Metachromatic leukodystrophy: detection in serum." *J Pediatr* 83(5): 824-827.

Berger, J., Loschl, B., Bernheimer, H., Lugowska, A., Tytki-Szymanska, A., Gieselmann, V. and Molzer, B. (1997). "Occurrence, distribution, and phenotype of arylsulphatase A mutations in patients with metachromatic leukodystrophy." *Am J Med Genet* 69: 335-340.

Biffi, A., Capotondo, A., Fasano, S., Del Carro, U., Marchesini, S., Azuma, H., Malaguti, M. C., Amadio, S., Brambilla, R., Grompe, M., Bordignon, C., Quattrini, A. and Naldini, L. (2006). "Gene therapy of metachromatic leukodystrophy

reverses neurological damage and deficits in mice." *J Clin Invest* 116(11): 3070-3082.

Biffi, A., Lucchini, G., Rovelli, A. and Sessa, M. (2008). "Metachromatic leukodystrophy: an overview of current and prospective treatments." *Bone Marrow Transplant* 42: S2-S6.

Biffi, A., Montini, E., Lorioli, L., Cesani, M., Fumagalli, F., Plati, T., Baldoli, C., Martino, S., Calabria, A., Canale, S., Benedicenti, F., Vallanti, G., Biasco, L., Leo, S., Kabbara, N., Zanetti, G., Rizzo, W. B., Mehta, N. A. L., Cicalese, M. P., Casiraghi, M., Boelens, J. J., Del Carro, U., Dow, D. J., Schmidt, M., Assanelli, A., Neduva, V., Di Serio, C., Stupka, E., Gardner, J., von Kalle, C., Bordignon, C., Ciceri, F., Rovelli, A., Roncarolo, M. G., Aiuti, A., Sessa, M. and Naldini, L. (2013). "Lentiviral Hematopoietic Stem Cell Gene Therapy Benefits Metachromatic Leukodystrophy." *Science* 341: 1233158-1-1233158-11.

Boucher, A. A., Miller, W., Shanley, R., Ziegler, R., Lund, T., Raymond, G. and Orchard, P. J. (2015). "Long-term outcomes after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for metachromatic leukodystrophy: the largest single-institution cohort report." *Orphanet Journal of Rare Diseases* 10: 94.

Brant-Zawadzki, M., Atkinson, D., Detrick, M., Bradley, W. G. and Scidmore, G. (1996). "Fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR) for assessment of cerebral infarction. Initial clinical experience in 50 patients." *Stroke* 27(7): 1187-1191.

Bruns, G. A., Mintz, B. J., Leary, A. C., Regina, V. M. and Gerald, P. S. (1978). "Expression of human arylsulfatase-A in man-hamster somatic cell hybrids." *Cytogenet Cell Genet* 22(1-6): 182-185.

Cabeza, R. and Nyberg, L. (2000). "Imaging cognition II: An empirical review of 275 PET and fMRI studies." *J Cogn Neurosci* 12(1): 1-47.

Cable, C., Finkel, R. S., Lehky, T. J., Biassou, N. M., Wiggs, E. A., Bunin, N. and Pierson, T. M. (2011). "Unrelated umbilical cord blood transplant for juvenile metachromatic leukodystrophy: a 5-year follow-up in three affected siblings." *Mol Genet Metab* 102: 207-209.

Cesani, M., Capotondo, A., Plati, T., Sergi, L. S., Fumagalli, F., Roncarolo, M. G., Naldini, L., Comi, G., Sessa, M. and Biffi, A. (2009). "Characterization of new arylsulfatase A gene mutations reinforces genotype-phenotype correlation in metachromatic leukodystrophy." *Hum.Mutat.* 30: E936-E945.

Clarke, J. T., Skomorowski, M. A. and Chang, P. L. (1989). "Marked clinical difference between two sibs affected with juvenile metachromatic leukodystrophy." *Am J Med Genet* 33: 10-13.

Clas, P., Groeschel, S. and Wilke, M. (2012). "A semi-automatic algorithm for determining the demyelination load in metachromatic leukodystrophy." *Acad Radiol* 19: 26-34.

Clas, P. M. (2013). "Entwicklung eines Algorithmus zur semi-automatischen Quantifizierung der Demyelinisierung bei Metachromatischer Leukodystrophie." *Medizinische Dissertationsschrift, Universität Tübingen.*

- Colsch, B., Alfonso, C., Turpin, J. C. and al., e. (2008). "Sulfogalactosylceramides in motor and psycho-cognitive adult metachromatic leukodystrophy: relations between clinical, biochemical analysis and molecular aspects." *Biochimica Et Biophysica Acta* 1780: 10-13.
- Conzelmann, E. and Sandhoff, K. (1991). "Biochemical basis of late-onset neuropili- doses." *Dev Neurosci* 13: 197-204.
- D'Hooge, R., Van Dam, D., Franck, F., Gieselmann, V. and De Deyn, P. P. (2001). "Hyperactivity, neuromotor defects, and impaired learning and memory in a mouse model for metachromatic leukodystrophy." *Brain Res* 907: 35-43.
- de Hosson, L. D., van de Warrenburg, B. P., Preijers, F. W., Blijlevens, N. M., van der Reijden, B. A., Kremer, H. P., Lefeber, D. J., Allebes, W. A., Al-Ali, H., Niederwieser, D. W., Schaap, N. P. and Schattenberg, A. V. (2011). "Adult metachromatic leukodystrophy treated by allo-SCT and a review of the literature." *Bone Marrow Transplant* 46(8): 1071-1076.
- Desnick, R. J., Schuette, J. L., Golbus, M. S., Jackson, L., Lubs, H. A., Ledbetter, D. H., Mahoney, M. J., Pergament, E., Simpson, J. L., Zachary, J. M. and al., e. (1992). "First-trimester biochemical and molecular diagnoses using chorionic villi: high accuracy in the U.S. collaborative study." *Prenat Diagn* 12(5): 357-372.
- Dubois, G., Turpin, J. C., Georges, M. C. and Baumann, N. (1980). "Arylsulfatases A and B in leukocytes: a comparative statistical study of late infantile and juvenile forms of metachromatic leukodystrophy and controls." *Biomedicine* 33(1): 2-4.
- Duncan, J. and Owen, A. M. (2000). "Common regions of the human frontal lobe recruited by diverse cognitive demands." *Trends Neurosci* 23(10): 475-483.
- Duyff, R. F. and Weinstein, H. C. (1996). "Late-presenting metachromatic leukodystrophy." *Lancet* 348(9038): 1382-1383.
- Eichler, F., Grodd, W., Grant, E., Sessa, M., Bizzi, A., Bley, A., Kohlschuetter, A., Loes, D. J. and Kraegeloh-Mann, I. (2009). "Metachromatic Leukodystrophy: A Scoring System for Brain MR Observations." *AJNR Am J Neuroradiol* 30: 1893-1897.
- Estrov, Y., Scaglia, F. and Bodamer, O. A. (2000). "Psychiatric symptoms of inherited metabolic disease." *J Inherit Metab Dis* 23(1): 2-6.
- Evans, A. C., Collins, D. L., Mills, S. R., Brown, E. D., Kelly, R. L. and Peters, T. M. (1993). "3D statistical neuroanatomical models from 305 MRI volumes." *Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference, 1993., 1993 IEEE Conference Record.* 3: 1813-1817.
- Ganssen, A. (1984) "Physikalische Grundlagen" *Kernspintomographie - Einführung für Ärzte und Medizinstudenten*: 31-84. Zeitler, E., Köln, Deutsche Ärzte Verlag.
- Garcia-Lorenzo, D., Lecoeur, J., Arnold, D. L., Collins, D. L. and Barillot, C. (2009). "Multiple sclerosis lesion segmentation using an automatic multimodal graph cuts." *Med Image Comput Comput Assist Interv* 12(Pt2): 584-591.

Genovese, C. R., Lazar, N. A. and Nichols, T. (2002). "Thresholding of statistical maps in functional neuroimaging using the false discovery rate." *NeuroImage* 15(4): 870-878.

Gieselmann, V. (2008). "Metachromatic leukodystrophy: genetics, pathogenesis and therapeutic options." *Acta Paediatr Suppl* 97: 15-21.

Gieselmann, V., Franken, S., Klein, D., Mansson, J. E., Sandhoff, R., Lullmann, R. R., Hartmann, D., Saravanan, V. P., De Deyn, P. P., D'Hooge, R., Van Der Linden, A. M. and Schaeren-Wiemers, N. (2003). "Metachromatic leukodystrophy: consequences of sulphatide accumulation." *Acta Paediatr Suppl* 92: 74-79.

Gieselmann, V. and Krägeloh-Mann, I. (2010). "Metachromatic leukodystrophy-an update." *Neuropediatrics* 41(1): 1-6.

Gieselmann, V. and Krägeloh-Mann, I. (2014). *Metachromatic Leukodystrophy. The online metabolic and molecular bases of inherited disease*. New York, McGraw-Hill. Part 16 / Lysosomal Disorders: chapter 148.

Gieselmann, V., Polten, A., Kreysing, J. and von Figura, K. (1989). "Arylsulfatase A pseudodeficiency: loss of a polyadenylation signal and N-glycosylation site." *Proc Natl Acad Sci U S A* 86(23): 9436-9440.

Gonzales Ballester, M. A., Zisserman, A. P. and Brady, M. (2002). "Estimation of the partial volume effect in MRI." *Med Image Anal* 6(4): 389-405.

Görg, M., Wilck, W., Granitzny, B., Suerken, A., Lukacs, Z., Ding, X., Schulte-Markwort, M. and Kohlschütter, A. (2007). "Stabilization of juvenile metachromatic leukodystrophy after bone marrow transplantation: a 13-year follow-up." *Journal of Child Neurology* 22: 1139-1142.

Groeschel, S., Bley, A., Kühl, J., Kehrer, C., Müller, I., Kohlschütter, A., Weschke, B. and Krägeloh-Mann, I. (2013). "Hematopoietic stem cell transplantation in juvenile metachromatic leukodystrophy." *European Journal of Paediatric Neurology* 17: S21.

Groeschel, S., i Dali, C., Clas, P., Bohringer, J., Duno, M., Krarup, C., Kehrer, C., Wilke, M. and Krägeloh-Mann, I. (2012). "Cerebral gray and white matter changes and clinical course in metachromatic leukodystrophy." *Neurology* 79: 1662-1670.

Groeschel, S., Kehrer, C., Engel, C., C. I. D., Bley, A., Steinfeld, R., Grodd, W. and Krägeloh-Mann, I. (2011). "Metachromatic leukodystrophy: natural course of cerebral MRI changes in relation to clinical course." *J Inherit Metab Dis* 34(5): 1095-1102.

Groeschel, S., Kehrer, C. and Krägeloh-Mann, I. (2014). "Standardized description of rare diseases - the natural course and treatment of metachromatic leukodystrophy." *Rev Neurol* 48: C84-C93.

Groeschel, S., Kuhl, J. S., Bley, A. E., Kehrer, C., Weschke, B., Doring, M., Bohringer, J., Schrum, J., Santer, R., Kohlschütter, A., Krageloh-Mann, I. and Muller, I. (2016). "Long-term Outcome of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Patients With Juvenile Metachromatic Leukodystrophy

Compared With Nontransplanted Control Patients." *JAMA Neurol* 73(9): 1133-1140.

Groeschel, S., Scheffler, K., Klose, U. and Schultz, T. (2013). Microstructural changes in Metachromatic Leukodystrophy assessed by DTI, FOD, and NODDI. *Workshop Proc. Int. Soc. Magn. Reson. Med.*

Groeschel, S., Schultz, T., Hagberg, G., Klose, U., Hauser, T.-K., Nägele, T., Bieri, O., Prasloski, T., MacKay, A., Krägeloh-Mann, I. and Scheffler, K. (2014). Assessing white matter microstructure in regions with different myelin architecture. *Proc. Int. Soc. Magn. Reson. Med.*

Haberland, C., Brunngraber, E., Witting, L. and Daniels, A. (1973). "Juvenile metachromatic leucodystrophy. Case report with clinical, histopathological, ultrastructural and biochemical observations." *Acta Neuropathol* 26: 93-106.

Hageman, A. T., Gabreels, F. J., de Jong, J. G. and al., e. (1995). "Clinical symptoms of adult metachromatic leukodystrophy and arylsulfatase A pseudodeficiency." *Arch Neurol* 52: 408-413.

Heim, P., Claussen, M., Hoffmann, B., Conzelmann, E., Gartner, J., Harzer, K., Hunneman, D. H., Kohler, W., Kurlemann, G. and Kohlschütter, A. (1997). "Leukodystrophy incidence in Germany." *Am J Med Genet* 71: 475-478.

Herold, G. (2014). "Leukämien." *Innere Medizin*: 92-98. Köln, Gerd Herold.

Hess, B., Saftig, P., Hartmann, D., Coenen, R., Lullmann-Rauch, R., Goebel, H. H., Evers, M., von Figura, K., D'Hooge, R., Nagels, G., De Deyn, P., Peters, C. and Gieselmann, V. (1996). "Phenotype of arylsulfatase A-deficient mice: relationship to human metachromatic leukodystrophy." *Proc Natl Acad Sci U.S.A* 93: 14821-14826.

Hirsch, T. v. and Peiffer, J. (1955). "Über histologische Methoden in der Differentialdiagnose von Leukodystrophien und Lipoidosen." *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten* 194: 88-104.

Hoogerbrugge, P. M., Brouwer, O. F. and Fischer, A. (1991). "Bone marrow transplantation for metabolic diseases with severe neurological symptoms." *Bone marrow transplantation* 7 Suppl 2: 71.

Jatzkewitz, H. (1958). "Zwei Typen von Cerebrosid-Schwefelsäureestern als sog. "Prälipide" und Speichersubstanzen bei der Leukodystrophie, Typ Scholz (metachromatische Form der diffusen Sklerose)." *Z Physiol Chemie* 311: 279-282.

Kehrer, C., Blumenstock, G., Gieselmann, V., Krägeloh-Mann, I. and German, L. (2011b). "The natural course of gross motor deterioration in metachromatic leukodystrophy." *Dev Med Child Neurol* 53(9): 850-855.

Kehrer, C., Blumenstock, G., Raabe, C. and Krägeloh-Mann, I. (2011a). "Development and reliability of a classification system for gross motor function in children with metachromatic leucodystrophy." *Dev Med Child Neurol* 53(2): 156-160.

Kehrer, C., Groeschel, S., Doering, M. and Krägeloh-Mann, I. (2013). "5-year follow-up in hematopoietic stem cell transplantation in 2 patients with late-

infantile metachromatic leukodystrophy in comparison to an untreated cohort." *European journal of paediatric neurology: EJPN: official journal of the European Paediatric Neurology Society* 17: S1-S176.

Kehrer, C., Groeschel, S., Kustermann-Kuhn, B., Bürger, F., Köhler, W., Kohlschütter, A., Bley, A., Steinfeld, R., Gieselmann, V. and Krägeloh-Mann, I. (2014). "Language and cognition in children with metachromatic leukodystrophy: onset and natural course in a nationwide cohort." *Orphanet journal of rare diseases* 9: 18.

Kennedy, D. W. and Abkowitz, J. L. (1997). "Kinetics of central nervous system microglial and macrophage engraftment: analysis using a transgenic bone marrow transplantation model." *Blood* 90(3): 986-993.

Kernan, N. A., Bartsch, G., Ash, R. C., Beatty, P. G., Champlin, R., Filipovich, A., Gajewski, J., Hansen, J. A., Henslee-Downey, J., McCullough, J. and et al. (1993). "Analysis of 462 transplantations from unrelated donors facilitated by the National Marrow Donor Program." *N Engl J Med* 328(9): 593-602.

Kidd, D., Nelson, J., Jones, F., Dusoir, H., Wallace, I., McKinstry, S. and Patterson, V. (1998). "Long-term stabilization after bone marrow transplantation in juvenile metachromatic leukodystrophy." *Arch Neurol* 55: 98-99.

Krägeloh-Mann, I. and Groeschel, S. (2016). "Therapies of lysosomal storage disorders targeting the brain." *The Lancet* 388(10043): 440-442.

Krägeloh-Mann, I., Groeschel, S., Kehrer, C., Opherk, K., Nagele, T., Handgretinger, R. and Müller, I. (2013). "Juvenile metachromatic leukodystrophy 10 years post transplant compared with a non-transplanted cohort." *Bone Marrow Transplant* 48(3): 369-375.

Kreysing, J., von Figura, K. and Gieselmann, V. (1990). "Structure of the arylsulfatase A gene." *Eur J Biochem* 191(3): 627-631.

Krivit, W., Peters, C. and Shapiro, E. G. (1999). "Bone marrow transplantation as effective treatment of central nervous system disease in globoid cell leukodystrophy, metachromatic leukodystrophy, adrenoleukodystrophy, mannosidosis, fucosidosis, aspartylglucosaminuria, Hurler, Maroteaux-Lamy, and Sly syndromes, and Gaucher disease type III." *Curr Opin Neurol* 12: 167-176.

Lazeron, R. H., Boringa, J. B., Schouten, M., Uitdehaag, B. M., Bergers, E., Lindeboom, J., Eikelenboom, M. I., Scheltens, P. H., Barkhof, F. and Polman, C. H. (2005). "Brain atrophy and lesion load as explaining parameters for cognitive impairment in multiple sclerosis." *Mult Scler* 11(5): 524-531.

Leroy, J. G., Van Elsen, A. F., Martin, J. J., Dumon, J. E., Hulet, A. E., Okada, S. and Navarro, C. (1973). "Infantile metachromatic leukodystrophy. Confirmation of a prenatal diagnosis." *N Engl J Med* 288(26): 1365-1369.

Lugowska, A., Amaral, O., Berger, J. and al., e. (2005). "Mutations c.459+1G > A and p.P426L in the ARSA gene: prevalence in metachromatic leukodystrophy patients from European countries." *Mol Genet Metab* 86: 353-359.

- Lüllmann-Rauch, R. (2012). "Blut und Blutbildung." *Histologie*: 280-303. Stuttgart, Georg Thieme Verlag.
- MacFaul, R., Cavanagh, N., Lake, B. D., Stephens, R. and Whitfield, A. E. (1982). "Metachromatic leucodystrophy: review of 38 cases." *Arch Dis Child* 57(3): 168-175.
- Malm, G., Ringdén, O., Winiarski, J., Gröndahl, E., Uyebrant, P., Eriksson, U., Håkansson, H., Skjeldal, O. and Månsson, J. E. (1996). "Clinical outcome in four children with metachromatic leukodystrophy treated by bone marrow transplantation." *Bone marrow transplantation* 17: 1003-1008.
- Matthes, F., Stroobants, S., Gerlach, D., Wohlenberg, C., Wessig, C., Fogh, J., Gieselmann, V., Eckhardt, M., D'Hooge, R. and Matzner, U. (2012). "Efficacy of enzyme replacement therapy in an aggravated mouse model of metachromatic leukodystrophy declines with age." *Human molecular genetics* 21(11): 2599-2609.
- Matzner, U., Herbst, E., Hedayati, K. K., Lüllmann-Rauch, R., Wessig, C., Schröder, S., Eistrup, C., Möller, C., Fogh, J. and Gieselmann, V. (2005). "Enzyme replacement improves nervous system pathology and function in a mouse model for metachromatic leukodystrophy." *Human Molecular Genetics* 14(9): 1139-1152.
- Matzner, U., Lullmann-Rauch, R., Stroobants, S., Andersson, C., Weigelt, C., Eistrup, C., Fogh, J., D'Hooge, R. and Gieselmann, V. (2009). "Enzyme replacement improves ataxic gait and central nervous system histopathology in a mouse model of metachromatic leukodystrophy." *Mol Ther* 17: 600-606.
- McDaniel, M. A. (2005). "Big-brained people are smarter: A meta-analysis of the relationship between in vivo brain volume and intelligence." *Intelligence* 33(4): 337-346.
- Medina, J., Kimberg, D. Y., Chatterjee, A. and Coslett, H. B. (2010). "Inappropriate usage of the Brunner-Munzel test in recent voxel-based lesion-symptom mapping studies." *Neuropsychologia* 48(1): 341-343.
- Molzer, B., Sundt-Heller, R., Kainz-Korschinsky, M. and Zobel, M. (1992). "Elevated sulfatide excretion in heterozygotes of metachromatic leukodystrophy: dependence on reduction of arylsulfatase A activity." *Am J Med Genet* 44(4): 523-526.
- Moser, H. and Lees, M. (1965). "Sulfatide lipidosis: metachromatic leukodystrophy." *The metabolic basis of inherited disease*. New York, McGraw-Hill: 539-559.
- Mowry, E. M., Beheshtian, A., Waubant, E., Goodin, D. S., Cree, B. A., Qualley, P., Lincoln, R., George, M. F., Gomez, R., Hauser, S. L., Okuda, D. T. and Pelletier, D. (2009). "Quality of life in multiple sclerosis is associated with lesion burden and brain volume measures." *Neurology* 72: 1760-1765.
- Palisano, R., Rosenbaum, P., Walter, S., Russell, D., Wood, E. and Galuppi, B. (1997). "Development and reliability of a system to classify gross motor function in children with cerebral palsy." *Dev Med Child Neurol* 39: 214-223.

- Patil, S. A. and Maegawa, G. H. B. (2013). "Developing therapeutic approaches for metachromatic leukodystrophy." *Drug Design, Development and Therapy* 7: 729-745.
- Peiffer, J. (1959). "Über die metachromatischen Leukodystrophien (Typ Scholz)." *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten* 199: 386-416.
- Peng, L. and Suzuki, K. (1987). "Ultrastructural study of neurons in metachromatic leukodystrophy." *Clin Neuropathol* 6: 224-230.
- Phelan, M. C., Thomas, G. R., Saul, R. A., Rogers, R. C., Taylor, H. A., Wenger, D. A. and McDermid, H. E. (1992). "Cytogenetic, biochemical, and molecular analyses of a 22q13 deletion." *Am J Med Genet* 43(5): 872-876.
- Philippart, M., Sarlieve, L., Meurant, C. and Mechler, L. (1971). "Human urinary sulfatides in patients with sulfatidosis (metachromatic leukodystrophy)." *J Lipid Res* 12(4): 434-441.
- Pinter, D., Khalil, M., Pichler, A., Langkammer, C., Ropele, S., Marschik, P. B., Fuchs, S., Fazekas, F. and Enzinger, C. (2015). "Predictive value of different conventional and non-conventional MRI-parameters for specific domains of cognitive function in multiple sclerosis." *Neuroimage Clin* 7: 715-720.
- Pinter, D., Sumowski, J., DeLuca, J., Fazekas, F., Pichler, A., Khalil, M., Langkammer, C., Fuchs, S. and Enzinger, C. (2014). "Higher education moderates the effect of T2 lesion load and third ventricle width on cognition in multiple sclerosis." *PLoS One* 9(1): e87567.
- Polten, A., Fluharty, A. L., Fluharty, C. B., Kappler, J., von Figura, K. and Gieselmann, V. (1991). "Molecular basis of different forms of metachromatic leukodystrophy." *N Engl J Med*. 324: 18-22.
- Poorthuis, B. J., Wevers, R. A., Kleijer, W. J., Groener, J. E., de Jong, J. G., van Weely, S., Niezen-Koning, K. E. and van Diggelen, O. P. (1999). "The frequency of lysosomal storage diseases in The Netherlands." *Hum Genet* 105: 151-156.
- Porter, M. T., Fluharty, A. L. and Kihara, H. (1969). "Metachromatic leukodystrophy: arylsulfatase-A deficiency in skin fibroblast cultures." *Proc Natl Acad Sci U S A* 62(3): 887-891.
- Ramakrishnan, H., Hedayati, K. K., Lullmann-Rauch, R., Wessig, C., Fewou, S. N., Maier, H., Goebel, H. H., Gieselmann, V. and Eckhardt, M. (2007). "Increasing sulfatide synthesis in myelin-forming cells of arylsulfatase A-deficient mice causes demyelination and neurological symptoms reminiscent of human metachromatic leukodystrophy." *J Neurosci* 27: 9482-9490.
- Rauschka, H., Colsch, B., Baumann, N., Wevers, R., Schmidbauer, M., Krammer, M., Turpin, J. C., Lefevre, M., Olivier, C., Tardieu, S., Krivit, W., Moser, H., Moser, A., Gieselmann, V., Zalc, B., Cox, T., Reuner, U., Tytki-Szymanska, A., Aboul-Enein, F., LeGuern, E., Bernheimer, H. and Berger, J. (2006). "Late-onset metachromatic leukodystrophy: genotype strongly influences phenotype." *Neurology* 67: 859-863.

- Rehme, A. K., Eickhoff, S. B., Rottschy, C., Fink, G. R. and Grefkes, C. (2012). "Activation likelihood estimation meta-analysis of motor-related neural activity after stroke." *Neuroimage* 59(3): 2771-2782.
- Rorden, C. and Karnath, H. O. (2004). "Using human brain lesions to infer function: a relic from a past era in the fMRI age?" *Nat Rev Neurosci* 5(10): 813-819.
- Rorden, C., Karnath, H. O. and Bonilha, L. (2007). "Improving lesion-symptom mapping." *J Cogn Neurosci* 19(7): 1081-1088.
- Rovelli, A. M. (2008). "The controversial and changing role of haematopoietic cell transplantation for lysosomal storage disorders: an update." *Bone Marrow Transplant* 41 Suppl 2: S87-89.
- Sadovnick, A. D., Tuokko, H., Applegarth, D. A., Toone, J. R., Hadjistavropoulos, T. and Beattie, B. L. (1993). "The differential diagnosis of adult onset metachromatic leukodystrophy and early onset familial Alzheimer disease in an Alzheimer clinic population." *Can J Neurol Sci* 20(4): 312-318.
- Sandhoff, R., Hepbildikler S T and Jennemann, R. e. a. (2002). "Kidney sulfatides in mouse models of inherited glycosphingolipid disorders: determination by nano-electrospray ionization tandem mass spectrometry." *J Biol Chem* 277: 20386-20398.
- Saravanan, K., Schaeren-Wiemers, N., Klein, D., Sandhoff, R., Schwarz, A., Yaghoofam, A., Gieselmann, V. and Franken, S. (2004). "Specific downregulation and mistargeting of the lipid raft-associated protein MAL in a glycolipid storage disorder." *Neurobiol Dis* 16(2): 396-406.
- Schiffmann, R. and van der Knaap, M. S. (2009). "Invited article: an MRI-based approach to the diagnosis of white matter disorders." *Neurology* 72: 750-759.
- Scholz, W. (1925). "Klinische, pathologisch-anatomische und erbbiologische Untersuchungen bei familiärer, diffuser Hirnsklerose im Kindesalter." *Zeitschrift für die gesamte Neurologie Psychiatrie* 99: 651-717.
- Schott, I., Hartmann, D., Gieselmann, V. and Lullmann-Rauch, R. (2001). "Sulfatide storage in visceral organs of arylsulfatase A-deficient mice." *Virchows Arch* 439(1): 90-96.
- Seghier, M. L., Ramlackhansingh, A., Crinion, J., Leff, A. P. and Price, C. J. (2008). "Lesion identification using unified segmentation-normalisation models and fuzzy clustering." *Neuroimage* 41: 1253-1266.
- Sessa, M., Lorioli, L., Fumagalli, F., Acquati, S., Redaelli, D., Baldoli, C., Canale, S., Lopez, I. D., Morena, F., Calabria, A., Fiori, R., Silvani, P., Rancoita, P. M., Gabaldo, M., Benedicenti, F., Antonioli, G., Assanelli, A., Cicalese, M. P., Del Carro, U., Sora, M. G., Martino, S., Quattrini, A., Montini, E., Di Serio, C., Ciceri, F., Roncarolo, M. G., Aiuti, A., Naldini, L. and Biffi, A. (2016). "Lentiviral haemopoietic stem-cell gene therapy in early-onset metachromatic leukodystrophy: an ad-hoc analysis of a non-randomised, open-label, phase 1/2 trial." *Lancet* 388(10043): 476-487.

- Sevin, C., Aubourg, P. and Cartier, N. (2007). "Enzyme, cell and gene-based therapies for metachromatic leukodystrophy." *J Inherit Metab Dis* 30: 175-183.
- Sevin, C., Benraiss, A., Van Dam, D., Bonnin, D., Nagels, G., Verot, L., Laurendeau, I., Vidaud, M., Gieselmann, V., Vanier, M., De Deyn, P. P., Aubourg, P. and Cartier, N. (2006). "Intracerebral adeno-associated virus-mediated gene transfer in rapidly progressive forms of metachromatic leukodystrophy." *Hum Mol Genet* 15(1): 53-64.
- Shapiro, E. G., Lockman, L. A., Knopman, D. and Krivit, W. (1994). "Characteristics of the dementia in late-onset metachromatic leukodystrophy." *Neurology* 44(4): 662-665.
- Sira, C. S. and Mateer, C. A. (2014). Frontal Lobes. *Encyclopedia of the Neurological Sciences*. R. B. Daroff and M. J. Aminoff, Academic Press 2: 358-365.
- Smith, N. J., Marcus, R. E., Sahakian, B. J., Kapur, N. and Cox, T. M. (2010). "Haematopoietic stem cell transplantation does not retard disease progression in the psycho-cognitive variant of late-onset metachromatic leukodystrophy." *Journal of inherited metabolic disease* S3: S471-475.
- Strasberg, P. M., Warren, I., Skomorowski, M. A. and Lowden, J. A. (1985). "HPLC analysis of urinary sulfatide: an aid in the diagnosis of metachromatic leukodystrophy." *Clin Biochem* 18(2): 92-97.
- Strölin, M., Groeschel, S., Kehrer, C. and Krägeloh-Mann, I. (2016). "Demyelination Load and Cerebral Atrophy in Juvenile Metachromatic Leukodystrophy." *Neuropediatrics* 47(S 01): FV04-06.
- Strölin, M., Krägeloh-Mann, I., Kehrer, C., Wilke, M. and Groeschel, S. (2017). "Demyelination load as predictor for disease progression in juvenile metachromatic leukodystrophy." *Ann Clin Transl Neurol* 4(6): 403-410.
- Stroobants, S., Gerlach, D., Matthes, F., Hartmann, D., Fogh, J., Gieselmann, V., D'Hooge, R. and Matzner, U. (2011). "Intracerebroventricular enzyme infusion corrects central nervous system pathology and dysfunction in a mouse model of metachromatic leukodystrophy." *Hum Mol Genet* 20: 2760-2769.
- Suzuki, K., Suzuki, K. and Chen, G. C. (1967). "Isolation and chemical Characterization of metachromatic granules from a brain with metachromatic leukodystrophy." *J neuropath exp Neurol* 14: 537-550.
- The MathWorks. (2015). "MATLAB - Die Sprache für technische Berechnungen." Retrieved 25.9.2015, 2015, from <http://de.mathworks.com/products/matlab/>.
- The Wellcome Trust Centre for Neuroimaging. (2015). "Statistical Parametric Mapping." Retrieved 25.9.2015, 2015, from <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>.
- Tiemann, L., Penner, I. K., Hapts, M., Schlegel, U. and Calabrese, P. (2009). "Cognitive decline in multiple sclerosis: impact of topographic lesion distribution on differential cognitive deficit patterns." *Mult Scler* 15(10): 1164-1174.
- Tillema, J.-M., Derks, M. G. M., Pouwels, P. J. W., de Graaf, P., van Rappard, D. F., Barkhof, F., Steenweg, M. E., van der Knaap, M. S. and Wolf, N. I. (2015).

"Volumetric MRI data correlate to disease severity in metachromatic leukodystrophy." *Ann Clin Transl Neurol* 2(9): 932-940.

Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin. (2015). "Experimental Pediatric Neuroimaging - Software." Retrieved 25.9.2015, 2015, from <https://www.medizin.uni-tuebingen.de/kinder/en/research/neuroimaging/software/>.

van Egmond, M. E., Pouwels, P. J., Boelens, J. J., Lindemans, C. A., Barkhof, F., Steenwijk, M. D., van Hasselt, P. M., van der Knaap, M. S. and Wolf, N. I. (2013). "Improvement of white matter changes on neuroimaging modalities after stem cell transplant in metachromatic leukodystrophy." *JAMA Neurol* 70(6): 779-782.

Varvel, N. H., Grathwohl, S. A., Baumann, F., Liebig, C., Bosch, A., Brawek, B., Thal, D. R., Charo, I. F., Heppner, F. L., Aguzzi, A., Garaschuk, O., Ransohoff, R. M. and Jucker, M. (2012). "Microglial repopulation model reveals a robust homeostatic process for replacing CNS myeloid cells." *Proc Natl Acad Sci USA* 109(44): 18150-18155.

von Figura, K., Gieselmann, V. and Jacken, J. (2001). *Metachromatic leukodystrophy. The metabolic and molecular bases of inherited disease*. New York, McGraw-Hill. 8th: 3695-3724.

Weishaupt, D., Köchli, V. D. and Marincek, B. (2006). "Bildkontrast." *Wie funktioniert MRI? Eine Einführung in Physik und Funktionsweise der Magnetresonanzbildgebung: 11-21 Heidelberg*, Springer Medizin Verlag.

Wittke, D., Hartmann, D., Gieselmann, V. and Lullmann-Rauch, R. (2004). "Lysosomal sulfatide storage in the brain of arylsulfatase A-deficient mice: cellular alterations and topographic distribution." *Acta Neuropathol* 108: 261-271.

Wohlschläger, A. and Habel, U. (2006) "Datenanalyse: Vorverarbeitung, Statistik und Auswertung" *Funktionelle MRT in Psychiatrie und Neurologie: 151-172*. Schneider, F. and Fink, G. R., Berlin, Springer Verlag.

Wu, K., Taki, Y., Sato, K., Hashizume, H., Sassa, Y., Takeuchi, H., Thyreau, B., He, Y., Evans, A. C., Li, X., Kawashima, R. and Fukuda, H. (2013). "Topological organization of functional brain networks in healthy children: differences in relation to age, sex, and intelligence." *PLoS One* 8(2): e55347.

Zou, K. H., Warfield, S. K., Bharatha, A., Tempany, C. M., Kaus, M. R., Haker, S. J., Wells, W. M., 3rd, Jolesz, F. A. and Kikinis, R. (2004). "Statistical validation of image segmentation quality based on a spatial overlap index." *Acad Radiol* 11(2): 178-189.

7 Anhang

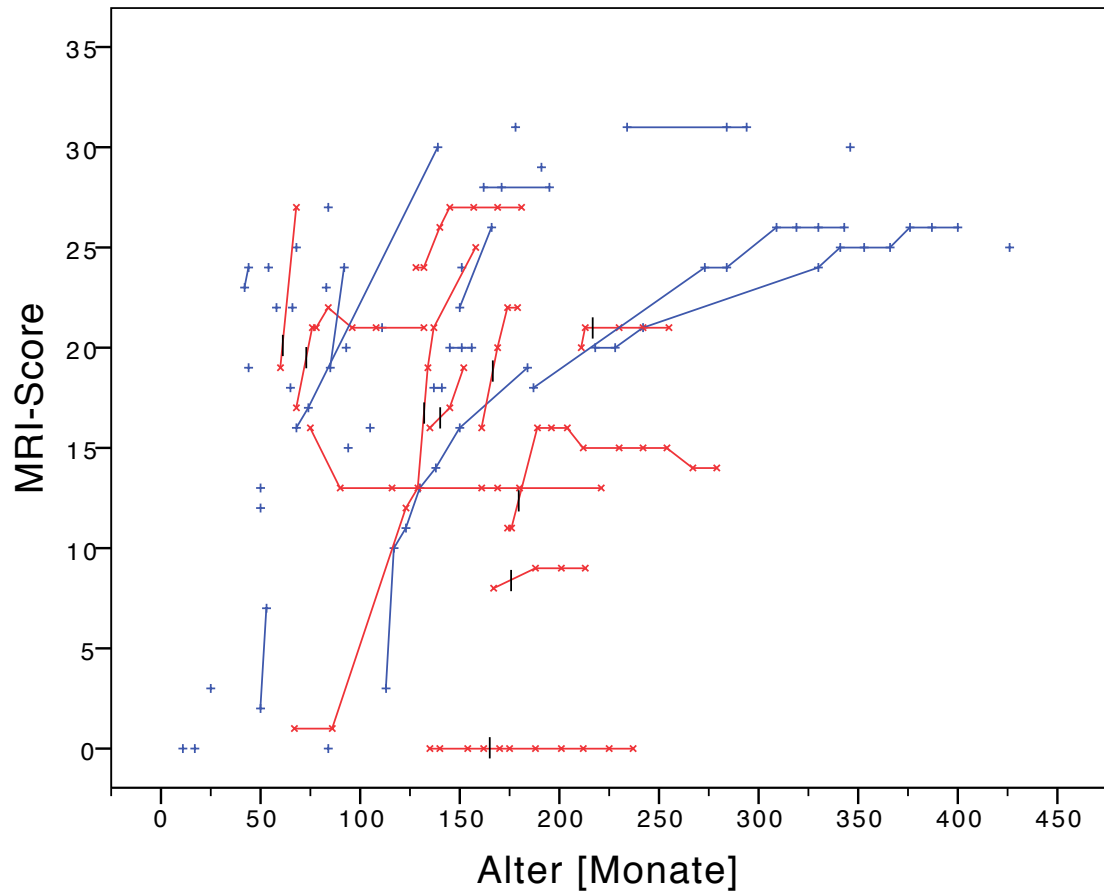


Abb. 42: Langzeitverläufe des MRI-Scores (nicht-transplantierte Patienten ebenfalls dargestellt). In Rot sind die Verläufe der MRI-Scores der 11 transplantierten und in Blau die Verläufe der 35 nicht-transplantierten Patienten zum jeweiligen Alter in Monaten eingetragen. Der schwarze Balken markiert den Zeitpunkt der HSZT. Verbundene Punkte kennzeichnen Verläufe. 2 Transplantierte haben keine Aufnahme vor Therapiebeginn.

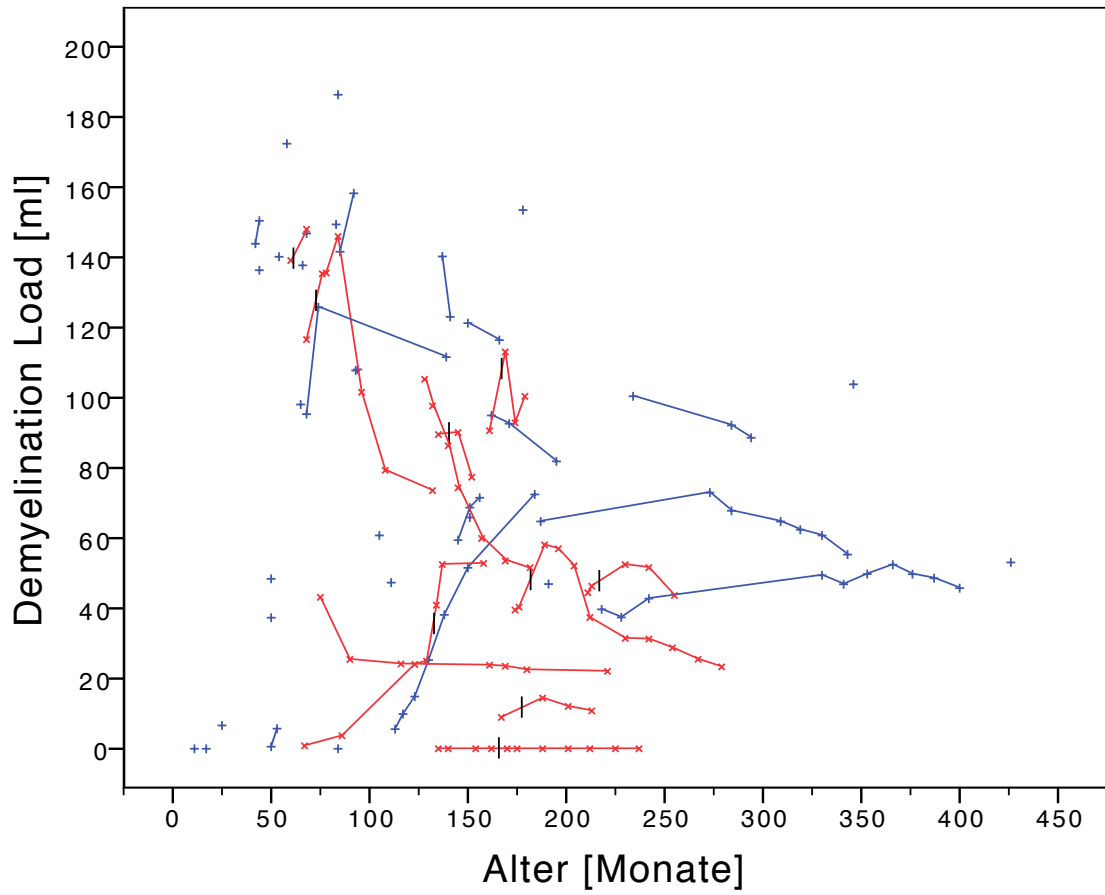


Abb. 43: Langzeitverläufe des Demyelination Loads (nicht-transplantierte Patienten ebenfalls dargestellt). In Rot sind die Verläufe des Demyelination Loads der 11 transplantierten und in Blau die Verläufe der 35 nicht-transplantierten Patienten zum jeweiligen Alter in Monaten eingetragen. Der schwarze Balken markiert den Zeitpunkt der HSZT. Verbundene Punkte kennzeichnen Verläufe. 2 Transplantierte haben keine Aufnahme vor Therapiebeginn.

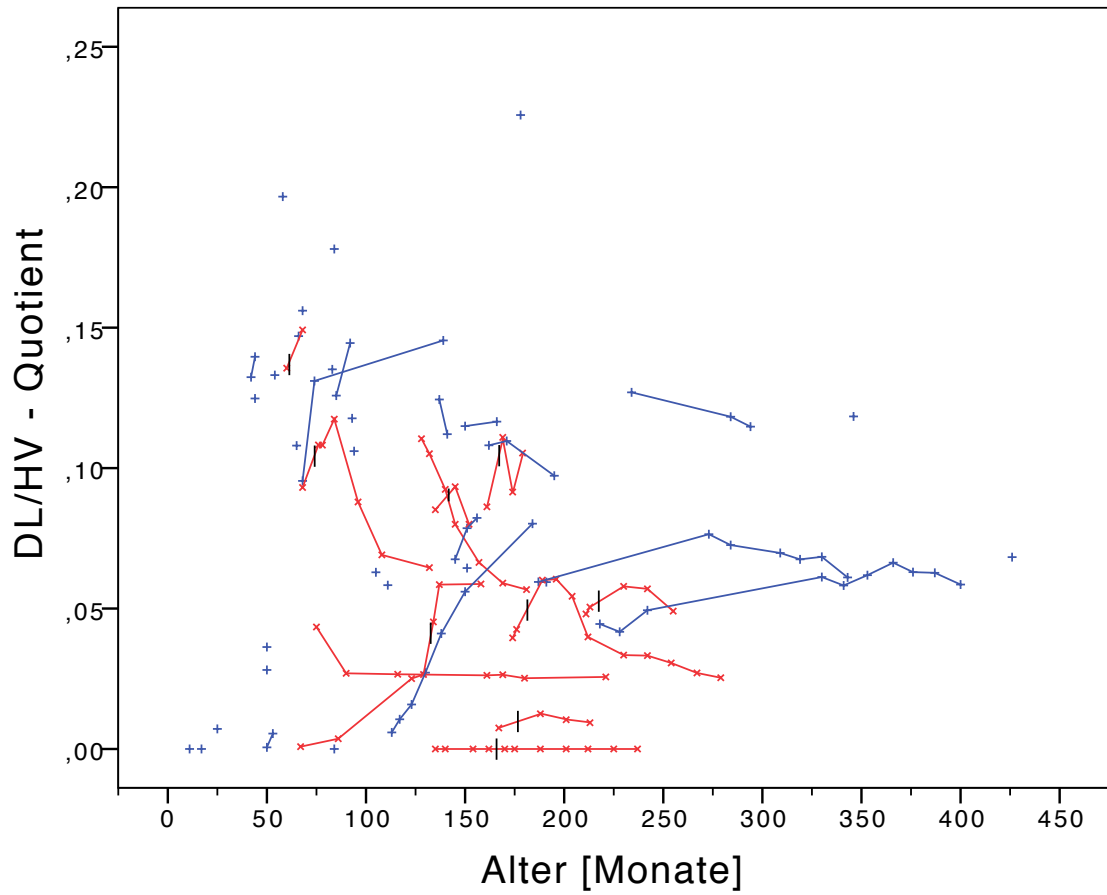


Abb. 44: Langzeitverläufe des korrigierten Demyelination Loads (nicht-transplantierte Patienten ebenfalls dargestellt). In Rot sind die Verläufe des korrigierten Demyelination Loads der 11 transplantierten und in Blau die Verläufe der 35 nicht-transplantierten Patienten zum jeweiligen Alter in Monaten eingetragen. Der schwarze Balken markiert den Zeitpunkt der HSZT. Verbundene Punkte kennzeichnen Verläufe. 2 Transplantierte haben keine Aufnahme vor Therapiebeginn.

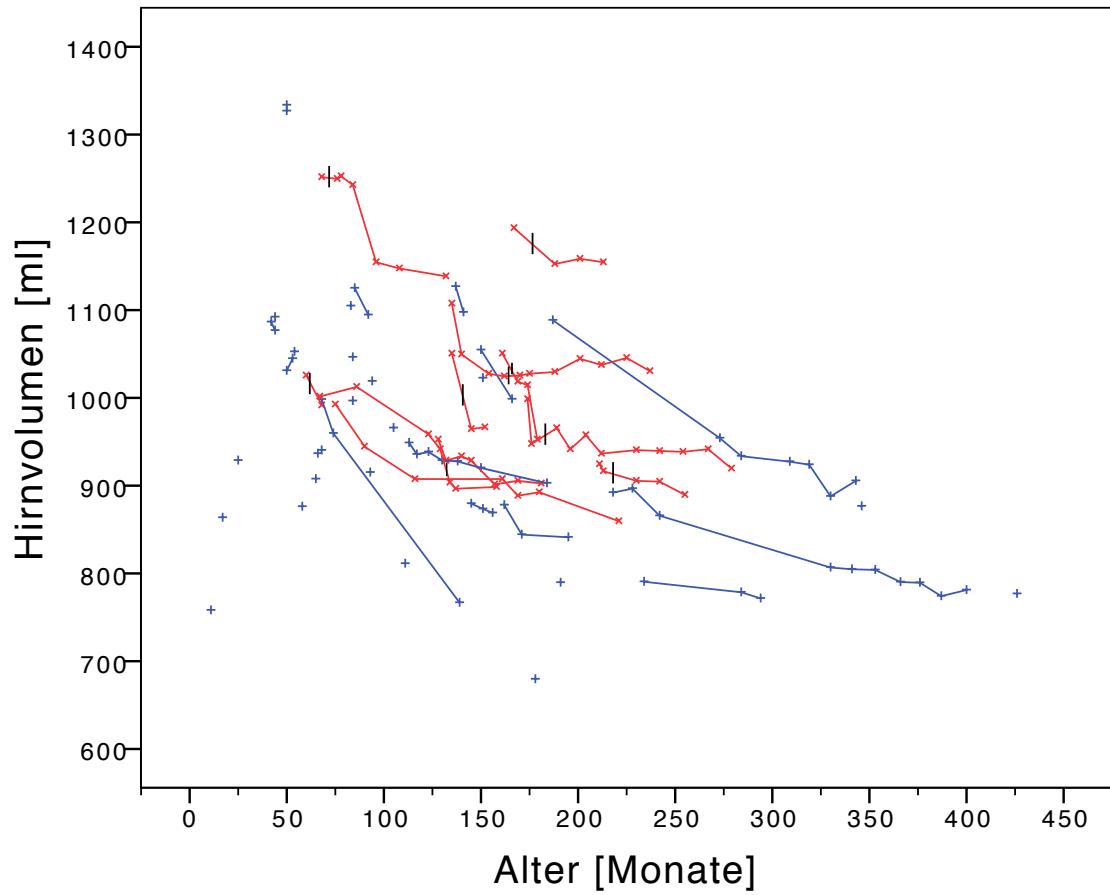


Abb. 45: Langzeitverläufe des Hirnvolumens (nicht-transplantierte Patienten ebenfalls dargestellt). In Rot sind die Verläufe des Hirnvolumens der 11 transplantierten und in Blau die Verläufe der 35 nicht-transplantierten Patienten zum jeweiligen Alter in Monaten eingetragen. Der schwarze Balken markiert den Zeitpunkt der HSZT. Verbundene Punkte kennzeichnen Verläufe. 2 Transplantierte haben keine Aufnahme vor Therapiebeginn.

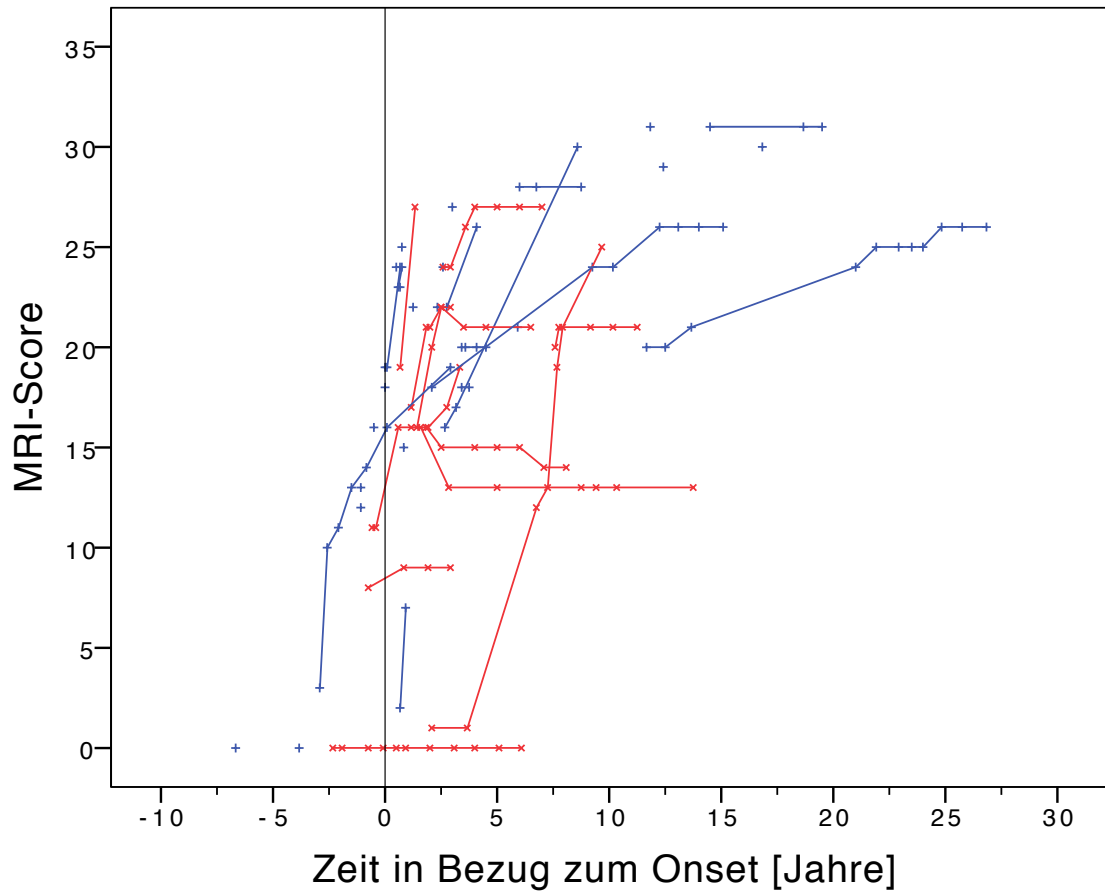


Abb. 46: Verläufe des MRI-Scores in Bezug zum Krankheits-Onset (nicht-transplantierte Patienten ebenfalls dargestellt). In Rot sind die Verläufe des MRI-Scores der 11 transplantierten und in Blau die Verläufe der 35 nicht-transplantierten Patienten zum jeweiligen Krankheits-Onset bzw. zur Stammzelltransplantation eingetragen. Der Krankheits-Onset ist durch die schwarze Gerade bei 0 Jahren gekennzeichnet. Verbundene Punkte kennzeichnen Verläufe.

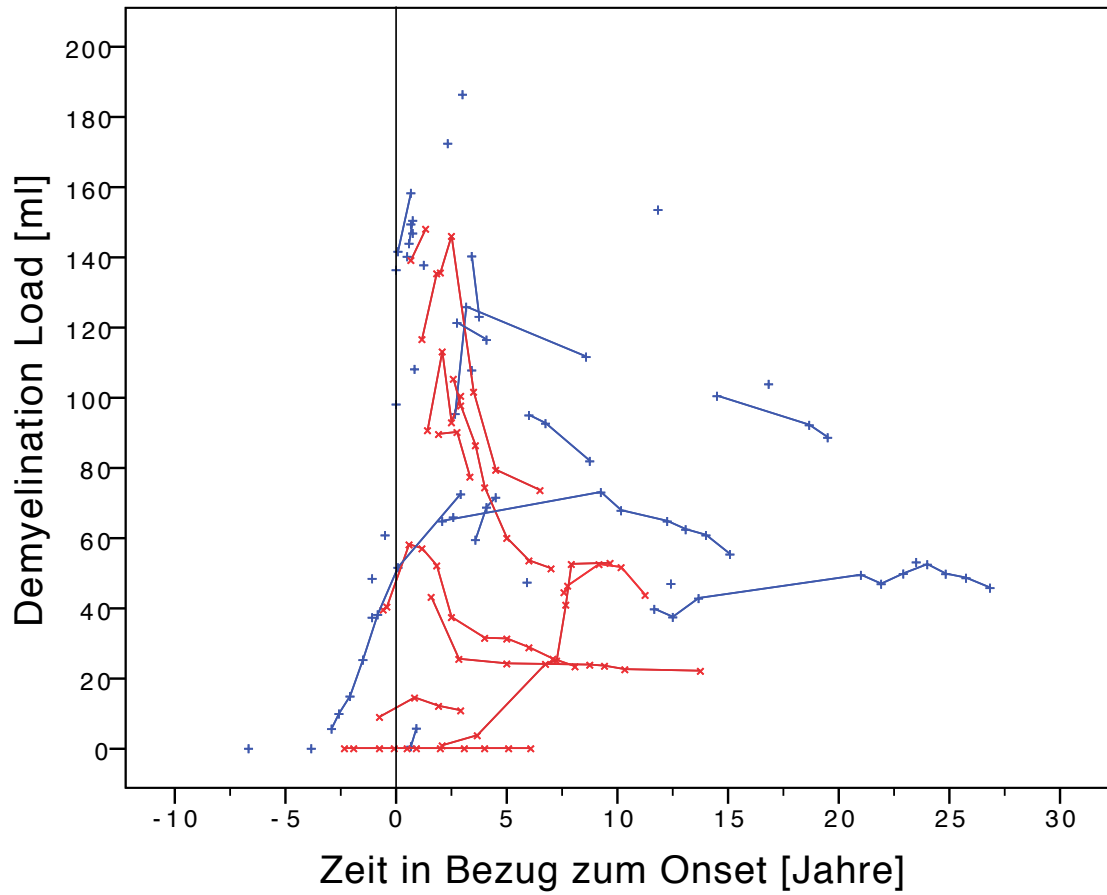


Abb. 47: Verläufe des Demyelination Loads in Bezug zum Krankheits-Onset (nicht-transplantierte Patienten ebenfalls dargestellt). In Rot sind die Verläufe des Demyelination Loads der 11 transplantierten und in Blau die Verläufe der 35 nicht-transplantierten Patienten zum jeweiligen Krankheits-Onset bzw. zur Stammzelltransplantation eingetragen. Der Krankheits-Onset ist durch die schwarze Gerade bei 0 Jahren gekennzeichnet. Verbundene Punkte kennzeichnen Verläufe.

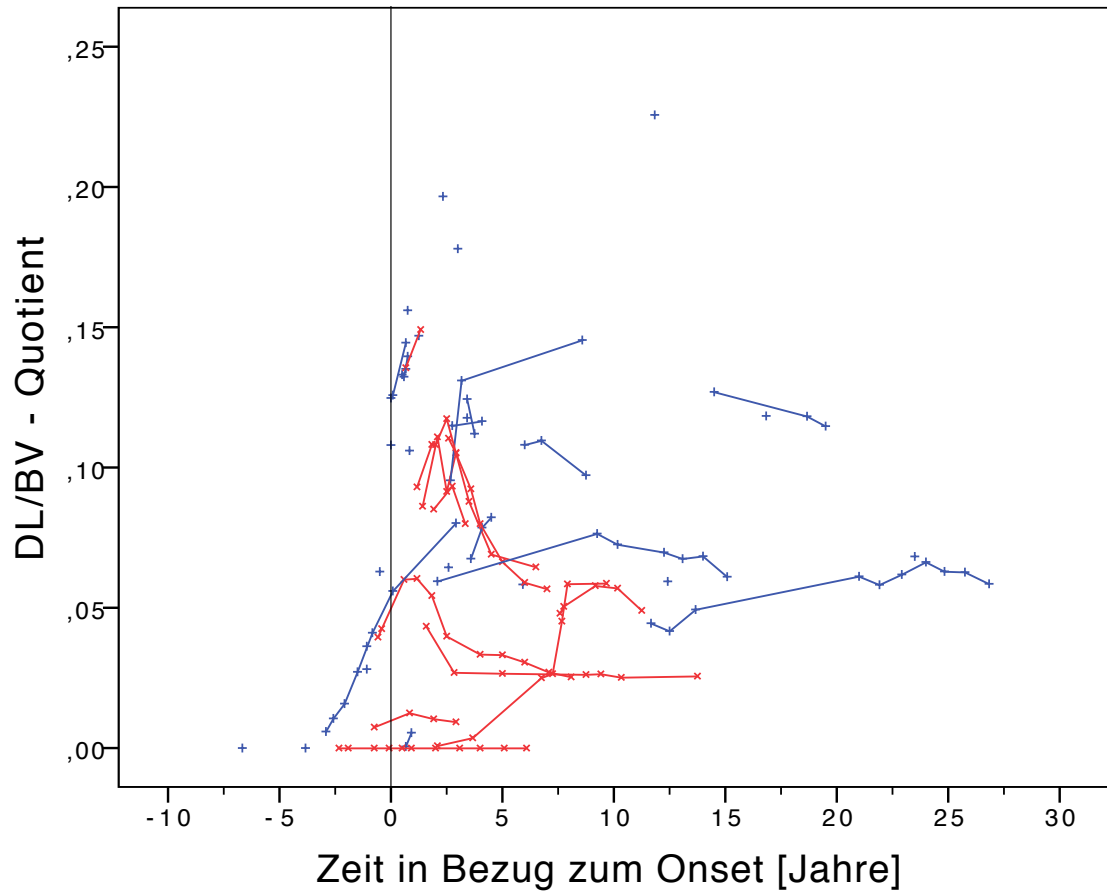


Abb. 48: Verläufe des korrigierten Demyelination Loads in Bezug zum Krankheits-Onset (nicht-transplantierte Patienten ebenfalls dargestellt). In Rot sind die Verläufe des korrigierten Demyelination Loads 11 transplantierten und in Blau die Verläufe der 35 nicht-transplantierten Patienten zum jeweiligen Krankheits-Onset bzw. zur Stammzelltransplantation eingetragen. Der Krankheits-Onset ist durch die schwarze Gerade bei 0 Jahren gekennzeichnet. Verbundene Punkte kennzeichnen Verläufe.

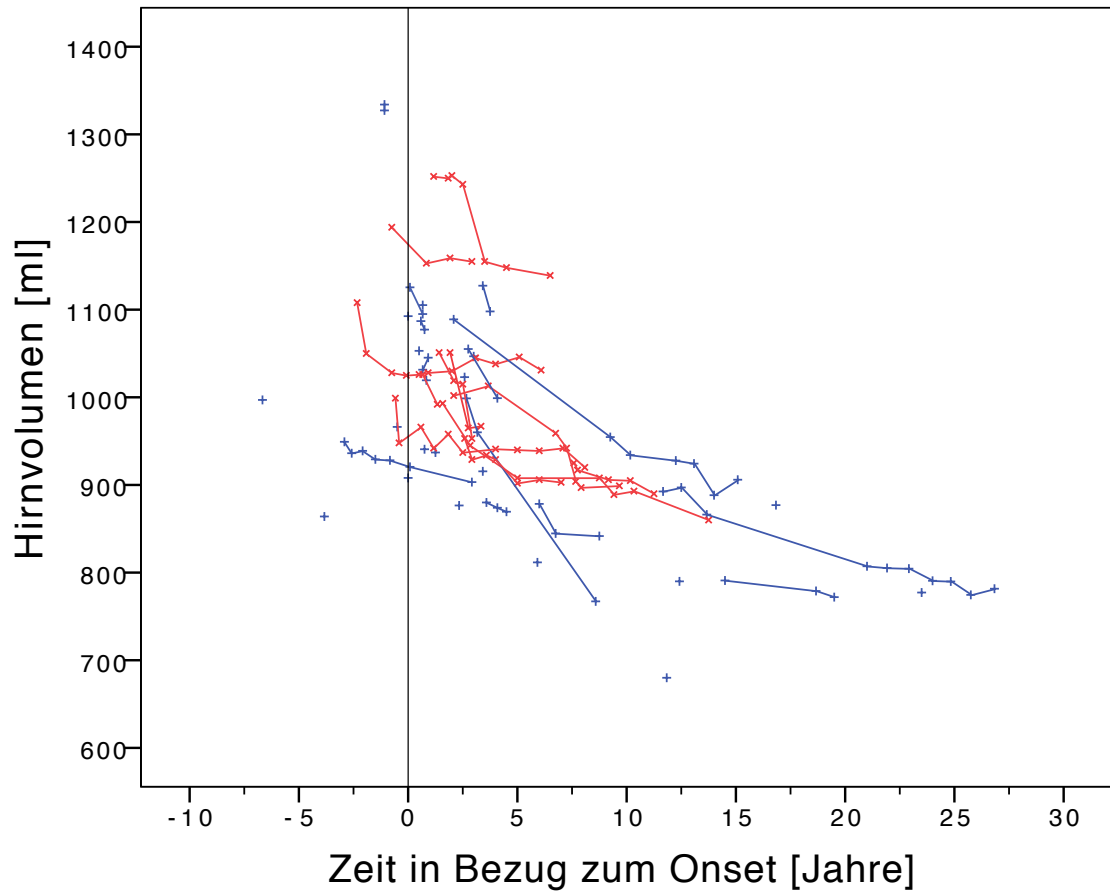


Abb. 49: Verläufe des Hirnvolumens in Bezug zum Krankheits-Onset (nicht-transplantierte Patienten ebenfalls dargestellt). In Rot sind die Verläufe des Hirnvolumens der 11 transplantierten und in Blau die Verläufe der 35 nicht-transplantierten Patienten zum jeweiligen Krankheits-Onset bzw. zur Stammzelltransplantation eingetragen. Der Krankheits-Onset ist durch die schwarze Gerade bei 0 Jahren gekennzeichnet. Verbundene Punkte kennzeichnen Verläufe.

8 Veröffentlichungen

Teile der vorliegenden Arbeit wurden bereits in der folgenden Publikation veröffentlicht:

Strölin, M., Krägeloh-Mann, I., Kehrer, C., Wilke, M., and Groeschel, S. (2017). „Demyelination load as predictor for disease progression in juvenile metachromatic leukodystrophy.“ *Annals of Clinical and Translational Neurology* 4(6): 403-410.

Die freundliche Genehmigung zur Wiederverwendung bereits publizierter Inhalte liegt vor.

Zusätzlich wurden einige Ergebnisse auf der 42. Jahrestagung der Gesellschaft für Neuropädiatrie (GNP) vorgestellt und in *Neuropediatrics* veröffentlicht:

Strölin, M., Groeschel, S., Kehrer, C. und Krägeloh-Mann, I. (2016). „Demyelination Load and Cerebral Atrophy in Juvenile Metachromatic Leukodystrophy.“ *Neuropediatrics* 47(S 01): FV04-06.

Ergebnisse dieser Arbeit haben zudem zu einer weiteren Veröffentlichung in *Neuropediatrics* beigetragen, die auf der 43. Jahrestagung der Gesellschaft für Neuropädiater (GNP) vorgestellt wurde:

Beschle, J., Groeschel, S., Kehrer, C., Strölin, M., Raabe, C., Bayha, U., Bevo, A., Döring, M., Grimm, A., Bender, B., Krägeloh-Mann, I. (2017). „Early Effects after Hematopoietic Stem Cell Transplantation in 13 Children with Juvenile Metachromatic Leukodystrophy.“ *Neuropediatrics* 48(S 01): OP08.

9 Erklärung zum Eigenanteil

Diese Dissertation wurde von Manuel Strölin erstellt. Die Arbeit wurde in der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen, Abteilung Kinderheilkunde III (Schwerpunkt: Neuropädiatrie, Entwicklungsneurologie, Sozialpädiatrie) unter Betreuung von Professor Dr. Ingeborg Krägeloh-Mann durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte durch Manuel Strölin in Zusammenarbeit mit Dr. Samuel Gröschel und Professor Dr. Ingeborg Krägeloh-Mann.

Die Erhebung der Daten (hauptsächlich die Quantifizierung des Demyelination Loads und des Hirnvolumens) wurde nach Einarbeitung durch den erfahrenen Neuropädiater Dr. Samuel Gröschel von mir eigenständig durchgeführt. Es erfolgte eine (Interrater-)Kontrolle der Quantifizierung und der Normalisierung der Demyelination Load-Masken durch Dr. Samuel Gröschel. Die entsprechenden Stellen sind im Text gekennzeichnet.

Die statistische Auswertung erfolgte nach Anleitung durch Dr. Samuel Gröschel durch mich.

Ich versichere, das Manuskript selbständig nach Anleitung durch Professor Dr. Ingeborg Krägeloh-Mann und Dr. Samuel Gröschel verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben

Die Publikation wurde hauptverantwortlich von Manuel Strölin verfasst. Professor Dr. Ingeborg Krägeloh-Mann war an der Interpretation der Daten und dem Studiendesign beteiligt. Dr. Christiane Kehrer steuerte Ihre klinische Expertise bei. PD Dr. Marko Wilke wirkte vor allem an der methodischen Aufarbeitung der MR-Daten mit. Dr. Samuel Gröschel trug besonders zur Erstellung des Studiendesigns und der Interpretation der Daten bei. Alle Koautoren wirkten an der Erstellung und Revision des endgültigen Manuskripts mit.

10 Danksagung

Diese Arbeit ermöglichte mir, in die spannende Welt der wissenschaftlichen Forschung einzutauchen. An dieser Stelle möchte ich mich bei all den Menschen bedanken, die dieses Erlebnis zu einer großen Freude gemacht haben.

An erster Stelle danke ich Frau Krägeloh-Mann für die Chance, ein sehr spannendes Thema zu bearbeiten und als Teil ihres Teams an der Erforschung der MLD beteiligt gewesen zu sein. Dabei stand sie mir stets mit Ratschlägen und ihrer großen Expertise zur Seite.

Ein sehr großer Dank gilt Samuel Gröschel. Von Anfang an half er mir bei meinen ersten Schritten in der Welt des wissenschaftlichen Arbeitens. Dabei wurde er nie müde mir technische Details oder unterschiedliche Zitierformen näher zu bringen. Trotz nächtelangen Messungen am MRT war Samuel immer der Spaß an der Arbeit wichtig. Dabei entstand auch eine Freundschaft, welche über die gemeinsamen Leiden beim Fußball hinausgeht. Für die Unterstützung und Betreuung bin ich Samuel sehr dankbar.

Bedanken möchte ich mich auch bei Marko Wilke und Christiane Kehrer. Beide trugen mit ihrer freundlichen Art dazu bei, dass ich mich stets willkommen fühlte. Marko Wilke war mir besonders bei der Aufarbeitung der technischen Daten eine große Hilfe und Christiane Kehrer ließ mich sehr von ihrem klinischen Wissen profitieren.

Das gesamte Team der Kinderklinik Tübingen und besonders die Abteilung Neuropädiatrie, Entwicklungsneurologie, Sozialpädiatrie machte meine Zeit dort durch den immer höflichen und hilfsbereiten Umgang miteinander zu einer sehr angenehmen und schönen Erfahrung.

Danken möchte ich an dieser Stelle allen alten und neuen Freunden, die mich während meines Studiums unterstützt haben und mit denen ich jederzeit das Leben genießen durfte.

Zu guter Letzt gilt ein ganz besonderer Dank meinen Eltern und Geschwistern. Ohne ihre Unterstützung in allen Lebenslagen wäre mir weder meine Zeit in Tübingen noch diese Dissertation möglich gewesen.