

Aus der

Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen

Abteilung Kinderheilkunde III mit Poliklinik

(Schwerpunkt: Neuropädiatrie, Allgemeinpädiatrie, Diabetologie,  
Endokrinologie, Sozialpädiatrie)

**Frühes Outcome nach Hämatopoetischer  
Stammzelltransplantation bei Kindern mit juveniler  
Metachromatischer Leukodystrophie**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen**

**vorgelegt von**

**Beschle, Judith**

**2024**

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

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

2. Berichterstatter: Professor Dr. J. H. Schulte

Tag der Disputation: 01.10.2024

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>9</b>
1.1	Metachromatische Leukodystrophie.....	9
1.1.1	Pathogenese.....	9
1.1.2	Genetik.....	10
1.1.3	Klinische Verlaufsformen.....	11
1.1.1	Diagnostik.....	13
1.2	HSZT als Therapieoption bei MLD.....	15
1.3	Zielsetzung und Motivation der Arbeit.....	16
<b>2</b>	<b>Patient*innen, Material und Methoden</b> .....	<b>18</b>
2.1	Patient*innen.....	18
2.1.1	Transplantierte Patient*innen.....	19
2.1.2	Nicht-transplantierte Patient*innen.....	20
2.2	Laborparameter zur Diagnosestellung.....	21
2.2.1	ARSA-Aktivität.....	21
2.2.2	Sulfatidkonzentration im Urin.....	21
2.3	Hämatopoetische Stammzelltransplantation.....	21
2.4	Analyse des Frühverlaufs nach HSZT.....	23
2.4.1	Klinische Parameter.....	23
2.4.2	Elektrophysiologische Parameter.....	25
2.4.3	Veränderungen im Gehirn.....	26
2.4.4	Hämatologische Parameter.....	26
2.4.5	Kategorisierung der Outcome-Gruppen.....	27
2.5	Prognostische Werte für das frühe Outcome.....	27
2.6	Untersuchung der Krankheitsprogredienz bei transplantierten vs. nicht-transplantierten Patient*innen.....	28
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>29</b>
3.1	Analyse des Frühverlaufs nach HSZT.....	29
3.1.1	Überlebensrate.....	29

3.1.2	Grobmotorische Funktion (Abbildung 2) .....	29
3.1.3	Kognitive Funktion (Abbildung 3) .....	30
3.1.4	Nervenleitgeschwindigkeit (Abbildung 4) .....	31
3.1.5	MLD MR Severity Score (Abbildung 5) .....	32
3.1.6	Vergleich zwischen frühem und langfristigen Outcome .....	33
3.1.7	Hämatologisches Outcome (Tabelle 4).....	33
3.2	Prognostische Werte für den frühen Krankheitsverlauf (Tabelle 5)	35
3.3	Unterschiede im Krankheitsverlauf zwischen transplantierten und nicht-transplantierten Patient*innen (Abbildung 6).....	37
<b>4</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>38</b>
4.1	Beobachtung der frühen Krankheitsverläufe nach HSZT .....	38
4.1.1	Verlauf klinischer Parameter und deren Bedeutung .....	38
4.1.2	Effekte auf die neurophysiologische Funktion.....	39
4.1.3	Effekte auf die erhobene MRT-Bildgebung.....	39
4.2	Prädiktive Werte für einen stabilen Krankheitsverlauf .....	39
4.2.1	Einordnung der gefundenen prädiktiven Faktoren in die Literatur	41
4.3	Möglicher Einfluss der HSZT auf den Krankheitsverlauf .....	42
4.3.1	Vergleich der Krankheitsverläufe transplantiertes Kinder mit progredientem Verlauf und nicht-transplantiertes Kinder .....	42
4.3.2	Ungenauigkeiten bei klinischen Parametern.....	43
4.3.3	Mögliche Ursachen für rasche Krankheitsprogredienz nach HSZT	44
4.4	Ausblick auf neue Therapieansätze und Aufnahme in das Neugeborenen-Screening.....	48
4.4.1	Gentherapie .....	48
4.4.2	Enzymersatztherapie (ERT).....	49
4.4.3	Immunmodulation .....	50
4.4.4	Neueste Entwicklungen .....	51
4.4.5	Neugeborenen-Screening.....	52
4.5	Schlussfolgerung.....	53
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>54</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>56</b>

<b>7</b>	<b>Erklärung zum Eigenanteil .....</b>	<b>75</b>
<b>8</b>	<b>Liste der Veröffentlichungen.....</b>	<b>77</b>
<b>9</b>	<b>Danksagung.....</b>	<b>78</b>

# Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildung 1: Beispielhafte MRT-Aufnahmen.....	14
Abbildung 2: Grobmotorische Funktion gemessen mit GMFM-88 über die Zeit... 29	
Abbildung 3: Kognitive Funktion bewertet durch IQ über die Zeit.....	30
Abbildung 4: NLG des N. tibialis über die Zeit.....	31
Abbildung 5: MLD MR Severity Score über die Zeit.....	32
Abbildung 6: Zeit zwischen GMFC.MLD1 und GMFC.MLD2 bei transplantierten und nicht-transplantierten Kindern.....	37
Tabelle 1: Eigenschaften der Patient*innen zu Untersuchungsbeginn .....	19
Tabelle 2: Hämatologische Behandlung vor und während HSZT .....	22
Tabelle 3: Gross Motor Function Classification für MLD (GMFC.MLD)(68).....	25
Tabelle 4: Hämatologisches Outcome.....	34
Tabelle 5: Prädiktive Werte für eine Krankheitsverschlechterung nach HSZT. All p-Werte wurden deskriptiv gewertet. ....	36

# Abkürzungsverzeichnis

ARSA	Arylsulfatase A
ERT	Enzyme Replacement Therapie (dt. Enzymersatztherapie)
GM	Grey Matter (dt. Graue Substanz)
GMFC.MLD	Gross Motor Function Classification for MLD
GMFM-88	Gross Motor Function Measure 88
GvHD	Graft-versus-Host-Disease (dt. Graft-versus-Host-Erkrankung)
HAWIK III	Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Kinder III
HLA	Humanes Leukozyten Antigen
HSZ	Hämatopoetische Stammzelle
HSZT	Hämatopoetische Stammzelltransplantation
HWZ	Halbwertszeit
IQ	Intelligenzquotient
K-ABC	Kaufman Assessment Battery For Children
Leukonet	Deutsches Leukodystrophie Netzwerk
MLD	Metachromatische Leukodystrophie
MRT	Magnetresonanztomographie
MSZ	Mesenchymale Stammzelle
NLG	Nervenleitgeschwindigkeit
PARP-1	Poly(ADP-Ribose)-Polymerase-1
PNS	Peripheres Nervensystem
SD	Standard Deviation (dt.: Standardabweichung)
SRT	Substratreduktionstherapie
VOD	Veno-Occlusive Disease (dt. Lebervenenverschlusskrankheit)
WIE III-IV	Wechsler Intelligenztest für Erwachsene
WM	White Matter (dt. Weiße Substanz)
X-ALD	X-chromosomale Adrenoleukodystrophie
ZNS	Zentrales Nervensystem



# 1 Einleitung

In dieser Arbeit soll der frühe Verlauf nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation (HSZT) bei Kindern mit Metachromatischer Leukodystrophie (MLD) beleuchtet werden. An dieser Stelle soll ein Überblick über die Erkrankung und mögliche Therapiemethoden, sowie die Zielsetzung und Motivation der Dissertation erläutert werden.

## 1.1 Metachromatische Leukodystrophie

Die metachromatische Leukodystrophie (MLD) ist eine seltene Stoffwechselerkrankung, die zu den lysosomalen Speicherkrankheiten (LSK) gezählt wird (1). Die Erkrankung ist monogenetisch, wird autosomal rezessiv vererbt und weist eine Prävalenz von 1-2/100.000, sowie eine Inzidenz von 1/40.000 Geburten auf (2).

### 1.1.1 Pathogenese

Die MLD wird durch eine Mutation im Gen für die Arylsulfatase A (ARSA) verursacht (1). Dieses Enzym katalysiert den ersten Schritt im Abbau des Sphingolipids 3'-O-Sulphogalactosylceramid, auch bekannt als Sulfatid. Jenes kommt besonders häufig im Myelin des Nervensystems vor, wo es etwa 4 % aller Myelinlipide ausmacht und wichtige Funktionen bei der Erhaltung des Myelins übernimmt (2,3). Bei einem Mangel an ARSA können die Sulfatide nicht mehr abgebaut werden und häufen sich in lysosomalen Speicherdepots der Myelinscheiden im zentralen und peripheren Nervensystem an (4). Dies bewirkt eine fortschreitende Demyelinisierung und hemmt die Differenzierung der Oligodendrozyten aus den Vorläuferzellen, wodurch die Remyelinisierung verhindert wird (5).

Sulfatide stellen eine wichtige, relativ unerforschte Komponente der Immunregulation im Zentralen Nervensystem (ZNS) dar (6). MLD-Patient\*innen weisen erhöhte Konzentrationen pro-inflammatorischer Zytokine und Chemokine im Liquor auf und es ist bekannt, dass Sulfatide eine Vielzahl von Immunzellen wie Neutrophile, dendritische Zellen, B-Zellen und Mikroglia im ZNS beeinflussen (6–8). Es konnte gezeigt werden, dass mit Sulfatiden behandelte organotypische Schnittkulturen ein verstärktes Entzündungsprofil aufweisen (9). Die Aktivierung

proinflammatorischer Signalwege im Gehirn stellt einen potenziellen Konvergenzpunkt zwischen chronischer Neuroinflammation und Neurodegeneration bei vielen Hirnerkrankungen wie Alzheimer und Multipler Sklerose dar, sodass davon ausgegangen werden kann, dass die Erhöhung dieser Zytokine zur Demyelinisierung bei MLD beiträgt (10–12).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die fortschreitende Demyelinisierung das pathologische Hauptmerkmal der MLD darstellt, das sich klinisch in einer Vielzahl schwerer neurologischer Symptome äußert (13).

### **1.1.2 Genetik**

Die MLD betreffend wurden 116 Mutationen des ARSA-Gens auf dem Chromosom 22q13.31 beschrieben (14), wenngleich die MLD genetisch sehr heterogen ist.

Die charakterisierten MLD-Mutationen lassen sich funktionell in zwei Gruppen unterteilen: 0-Allele, die mit einer extrem geringen enzymatischen Aktivität einhergehen, und R-Allele, die für eine ARSA mit nachweisbarer Restaktivität kodieren. Das 0-Allel c.465+1G>A und die R-Allele c.1283C>T und c.542T>G sind die bei Kaukasiern am häufigsten nachgewiesenen Mutationen und 80% der MLD-Patient\*innen weisen eine dieser drei Varianten auf (14–17).

Eine gewisse Genotyp-Phänotyp-Korrelation kann durch die unterschiedliche Restaktivität der ARSA erklärt werden (14–21). Bei einer Homozygotie zweier 0-Allele exprimieren Patient\*innen eine extrem geringe Restaktivität und leiden an der schwersten spätinfantilen Form der MLD (14,15,20–22). Die höchste ARSA-Aktivität in Leukozyten, die aus der R-Allel-Variante c.1283C > T im homozygoten Zustand resultiert, wird der spätjugendlichen und erwachsenen Form der MLD zugeordnet und geht mit einem ausschließlich kognitiven Krankheitsbeginn einher (21,23). Eine Compound- Heterozygotie mit dem 0-Allel c.465+1G>A wird bei allen Formen des Ausbruchs beobachtet, während eine Compound-Heterozygotie mit den R-Allelen der spätjugendlichen und erwachsenen Form mit kognitivem Krankheitsbeginn zugeordnet wird (15,21). Die Korrelation zwischen Phänotyp und Restaktivität der ARSA wurde auch auf biochemischer Ebene bestätigt (15–17), vor allem in Bezug auf den Krankheitsbeginn (14,15,21). So konnte gezeigt werden, dass eine Restaktivität der ARSA unter 1% mit einem frühen (vor 2,5 Jahren) und motorischen Krankheitsbeginn korreliert (21).

Dennoch besteht zwischen Patient\*innen mit demselben ARSA-Genotyp eine erhebliche Heterogenität, weshalb eine eindeutige Genotyp-Phänotyp-Korrelation bisher nicht nachgewiesen werden konnte (14,15,19,23–25).

Von der MLD zu unterscheiden ist zum einen die Arylsulfatase-A-Pseudodefizienz und der Saposin-B-Mangel.

Etwa 0,2 bis 0,5 % der kaukasischen Bevölkerung weisen einen erheblichen ARSA-Mangel mit einer Restaktivität des Enzyms von etwa 10 % des Normalwerts auf, ohne jedoch klinische Symptome zu zeigen (19). Dieses Phänomen wird als Arylsulfatase-A-Pseudodefizienz bezeichnet. Die Pseudodefizienz ist auf ein häufiges ARSA-Allel zurückzuführen, das zwei Polymorphismen trägt, von denen einer für die geringe Enzymaktivität verantwortlich ist (26). Personen, die heterozygot für ein ARSA-Pseudodefizienz-Allel und ein MLD-Allel sind, haben eine noch geringere Restaktivität der ARSA als Personen, die homozygot für das Pseudodefizienz-Allel sind. Personen, die heterozygot für ein ARSA-Pseudodefizienz-Allel und ein MLD-Allel sind, scheiden jedoch kein Sulfatid im Urin aus, ihre Nervenleitgeschwindigkeit (NLG) ist nicht vermindert, und es gibt auch keine überzeugenden Hinweise auf eine durch den Genotyp verursachte neurologische Erkrankung (27).

Die ARSA benötigt die Unterstützung eines kleinen Aktivatorproteins namens Saposin B, um Sulfatid abzubauen. Dieses Protein extrahiert Sulfatid aus den Membranen und präsentiert es der ARSA in einem Eins-zu-eins-Komplex. Ein Mangel an Saposin B ist viel seltener, führt aber ebenfalls zu einer Erkrankung, die klinisch dem ARSA-Mangel sehr ähnlich ist. Da Saposin B nicht nur für den Abbau von Sulfatiden, sondern auch für den von Globotriaosylceramid erforderlich ist, reichert sich letzteres Lipid auch bei Saposin-B-Mangel an, was ihn von der MLD unterscheidet (19)

### **1.1.3 Klinische Verlaufsformen**

Die MLD zeigt sich klinisch in neurologischen Symptomen, wobei sie in Bezug auf das Alter bei Krankheitsbeginn, die Geschwindigkeit des Fortschreitens der Erkrankung und die Anfangssymptome sehr heterogen erscheint. Im Allgemeinen können drei verschiedene klinische Formen der MLD unterschieden werden, die sich wesentlich durch die unterschiedliche Restaktivität der ARSA erklären lassen:

eine spät-infantile Form, die vor dem Alter von 30 Monaten auftritt (40-50%), eine juvenile Form, bei der Symptome im Alter von 30 Monaten bis 16 Jahren auftreten (30-40%) und eine adulte Form, die nach dem Alter von 16 Jahren beginnt (18-20%) (19,28–30).

Das Profil der Erstsymptome unterscheidet sich deutlich zwischen spätinfantiler, juveniler und adulten Form: Bei spätinfantilen Patient\*innen sind die häufigsten Erstsymptome abnorme Bewegungsmuster, Gangstörungen und Entwicklungsrückschritte (31), während Patient\*innen mit juvenilem Beginn häufiger Beeinträchtigungen der Feinmotorik, Konzentrations- und Verhaltensprobleme als Erstsymptome aufweisen (32). Bei der erwachsenen Form erinnern die ersten Symptome häufig an die Diagnose einer psychiatrischen Erkrankung, insbesondere der Schizophrenie, da psychotische Symptome und Verhaltensauffälligkeiten häufig einem Abbau der intellektuellen Fähigkeiten vorausgehen oder damit einhergehen (33).

Bei der spät-infantilen Form lassen sich meist im Alter von 12 bis 24 Monaten die ersten grobmotorischen Symptome feststellen. Im weiteren Verlauf der Erkrankung entwickeln sich die Patient\*innen sprachlich und schließlich auch kognitiv zurück. Die Sprache wird langsamer, ebenso wie die Bewegungen. Die Feinmotorik verschlechtert sich aufgrund einer Mischung aus peripherer Neuropathie, Spastik und Ataxie. Im späteren Stadium verschlechtert sich das Sehvermögen aufgrund einer Optikusatrophie, es entwickelt sich ein Nystagmus; Krampfanfälle sind ein Spätzeichen, ebenso wie eine schwere Demenz. Die Patient\*innen sterben in der Mehrzahl der Fälle im 1. Lebensjahrzehnt (19,31,32,34).

Der Verlauf bei jugendlichen Patient\*innen ist eher schleichend. Meist werden die Kinder mit schlechten Schulleistungen, unangemessenem Verhalten oder psychiatrischen Symptomen auffällig (32,35), wobei es immer wieder auch zu gravierenden Fehldiagnosen kommt (36,37). Insbesondere, wenn primär keine motorische Symptomatik zu verzeichnen ist, kann dies nicht nur über Monate, sondern sogar über einige Jahre hinweg relativ stabil bleiben (15). Sobald sich jedoch eindeutige neurologische Anzeichen, wie eine spastische Körperhaltung und ein Muskelhypertonus entwickeln, kommt es zu einem raschen Rückgang der Grobmotorik, der genauso schnell verlaufen kann wie bei der spätinfantilen Form

(15,15,19). Bei einigen Patient\*innen tritt diese Verschlechterung erst im frühen oder sogar späteren Erwachsenenalter auf (31).

Bei Erwachsenen ist die Erkrankung durch einen langsamen Rückgang der intellektuellen Fähigkeiten, emotionale Instabilität, abnormales Verhalten und Gedächtnisstörungen gekennzeichnet. Im Allgemeinen ist der Krankheitsverlauf viel langsamer als bei der spätkindlichen Form und Erwachsene können sogar noch Jahrzehnte nach der Diagnosestellung überleben (19,33).

Darüber hinaus konnte nachgewiesen werden, dass die Art der Symptome bei Krankheitsbeginn einen wichtigen Prädiktor für das Fortschreiten der Erkrankung darstellt. Patient\*innen mit motorischen Symptomen bei Krankheitsbeginn, sei dies allein oder in Kombination mit kognitiven Symptomen, weisen eine signifikant schnellere Krankheitsprogression auf als Patient\*innen, bei denen lediglich kognitive Erstsymptome beobachtet werden können (15).

### **1.1.1 Diagnostik**

#### **1.1.1.1 Laborchemische Parameter und genetische Untersuchung**

Bei klinischem Verdacht auf eine MLD wird zum einen die pathogenetisch verringerte Aktivität der ARSA in der Regel in Leukozyten des Blutes gemessen. Darüber hinaus ist die Quantifizierung der Sulfatidausscheidung im 24-Stunden-Urin ein wesentlicher Parameter für die Diagnose der MLD. Zusätzlich wird eine genetische Mutationsanalyse durchgeführt, jedoch ist die biochemische Diagnose der MLD der genetischen Diagnose vorzuziehen. Aufgrund der großen Vielfalt an Mutationen ist es meist notwendig, das gesamte Gen zu sequenzieren, weshalb dieser diagnostische Test in der MLD-Routinediagnostik von begrenztem Wert ist (19).

#### **1.1.1.2 MRT**

Neben den laborchemischen Parametern zählt eine Magnetresonanztomographie (MRT) des Schädels zur Diagnostik der MLD. Die Demyelinisierung der MLD zeigt sich in jenem vor allem in Veränderungen der weißen Substanz (WM), wobei die Aussparung der subkortikalen U-Fasern (Arcuate-Fasern) und des Kleinhirns als deutliche Hinweise auf eine MLD gewertet werden können (38–40).

Typisch sind symmetrische, konfluierende Regionen mit Signalhyperintensitäten auf T2-gewichteten Bildern, zunächst in periventrikulären Regionen und im Balken, im fortgeschrittenen Krankheitsstadium dann auch in den Hemisphären (40).

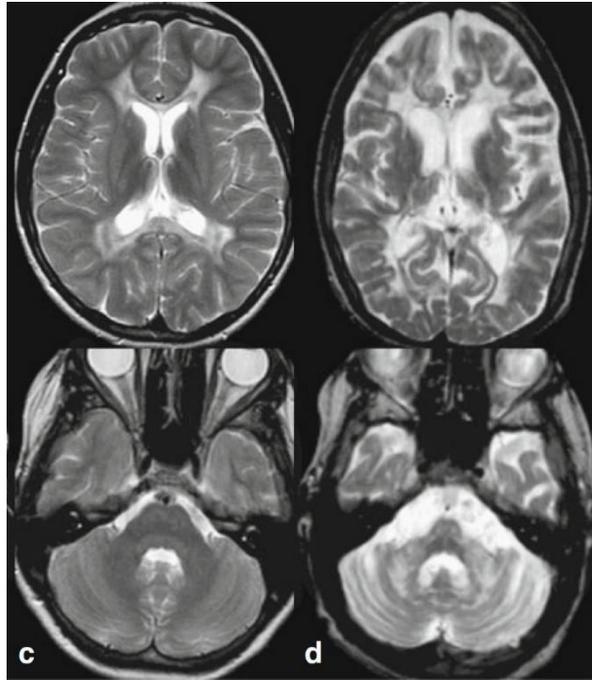


Abbildung 1: Beispielhafte MRT-Aufnahmen (41)

T2-gewichtete axiale MRT-Aufnahmen von Patient\*innen mit juveniler MLD in der frühen (c) und späten (d) Phase der Erkrankung (41).

(c) Periventrikuläre und zentrale Regionen der WM zeigen Signalhyperintensitäten, einschließlich der kommissuralen WM. Der hintere Schenkel der inneren Kapsel ist bereits betroffen. Es gibt keine zerebellären Veränderungen oder zerebrale Atrophie. Die subkortikale WM (U-Fasern) ist ebenfalls ausgespart (41)

d) Schwere zerebrale und zerebelläre Atrophie und zerebelläre WM-Signalhyperintensitäten, zusätzlich zu den betroffenen Projektionsfasern und dem reduzierten Volumen der supratentoriellen WM, die diffus hyperintens erscheint (41)

Es konnte gezeigt werden, dass die örtliche Ausbreitung dieser T2-Hyperintensitäten in gewissem Maße mit der Symptomatik in Zusammenhang steht (41). Eine vorrangig kognitive Beteiligung zeigte sich in erster Linie mit T2-Hyperintensitäten in der frontalen WM, motorische Defizite mit Signalanomalien vor allem in der zentralen Region (42,43). Häufig sind trigoide Streifen mit geringer Dichte innerhalb der abnormen WM zu sehen, die sich radial ausbreiten, welche als typisch für die MLD gelten, jedoch nicht spezifisch sind, da sie auch bei anderen Leukodystrophien vorkommen können (19). Das Corpus callosum ist im Frühstadium der Erkrankung betroffen, während die subkortikale WM bis zum

Spätstadium verschont bleibt; Atrophie kann als Spätzeichen gewertet werden (19). Es gibt keine Kontrastmittelanreicherung innerhalb der abnormen WM (40).

Groeschel et al. konnten darüber hinaus volumetrisch jedoch auch Veränderungen der grauen Substanz (GM) feststellen (42). Demnach ist das Volumen der GM bei Patient\*innen mit MLD im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen bereits in jungen Jahren reduziert, was die Hypothese unterstützt, dass neben der Demyelinisierung die neuronale Dysfunktion, die durch die Lipidspeicherung verursacht wird, eine zusätzliche Rolle im Krankheitsprozess spielt (42).

## **1.2 HSZT als Therapieoption bei MLD**

In den letzten 30 Jahren war die hämatopoetische Stammzelltransplantation (HSZT) die einzige klinisch verfügbare Therapieoption für die juvenile MLD (44). Es wird angenommen, dass monozytäre Knochenmarkszellen, die die Blut-Hirn-Schranke überwinden können, in das Gehirn migrieren, sich dort in Mikrogliazellen umdifferenzieren, das fehlende Enzym produzieren und eine Remyelinisierung ermöglichen (45,46). Es wird davon ausgegangen, dass die Remyelinisierung nach HSZT auf der neuroprotektiven und entzündungshemmenden Wirkung der Spendermakrophagen und nicht auf dem Prinzip der Kreuzkorrektur beruht, da die von Makrophagen und Mikrogliazellen sezernierte ARSA kein Mannose-6-Phosphat enthält (47) und deshalb auch nicht über den Mannose-6-Phosphat-Rezeptor der benachbarten Zellen endozytiert werden kann (46). Spendermakrophagen exprimieren viel eher Marker von entzündungshemmenden Zellen und unterstützen so das Überleben und die Differenzierung von Oligodendrozyten. Darüber hinaus verdauen sie akkumulierte Sulfatide und wirken so neuroprotektiv auf die Oligodendrozyten (46). Aufgrund des langsamen Ersatzes des ansässigen Gewebes dauert es jedoch 12 bis 24 Monate, bis sich die Krankheit stabilisiert (44,48–52), was wiederum die HSZT bei Kindern mit der rasch fortschreitenden spätinfantilen Form und bei jugendlichen Patient\*innen mit fortgeschrittenen Symptomen unwirksam macht (53). Als Hauptgrund für ein gutes Ergebnis bei Kindern mit der juvenilen Verlaufsform wird das frühe klinische Krankheitsstadium zum Zeitpunkt der Transplantation angesehen, da hierbei noch ausreichend Zeit bis zum schweren Fortschreiten der Erkrankung liegt. Patient\*innen, die in einem frühen Krankheitsstadium mit geringen motorischen und neurokognitiven

Beeinträchtigungen oder in einem präsymptomatischen Stadium transplantiert werden, weisen ein besseres Langzeitergebnis auf als Patient\*innen in fortgeschrittenen Krankheitsstadien (44,45,52,54–59). Aufgrund der unterschiedlichen Ergebnisse (48–50,60–63) und des häufigen Fehlens von Vergleichen zwischen den Ergebnissen bei transplantierten und nicht transplantierten Patient\*innen ist es jedoch nach wie vor umstritten, inwiefern die HSZT eine Behandlungsoption für die MLD darstellt (44,45,54,64).

### **1.3 Zielsetzung und Motivation der Arbeit**

Für die juvenile MLD stellt die HSZT auch aktuell die einzige Therapieoption dar. Groeschel et al. publizierten 2016, dass sich die HSZT positiv auf das Langzeitergebnis auswirkt, und zwar in der Weise, dass Patient\*innen, die sich einer HSZT unterziehen, im Durchschnitt eine bessere grobmotorische und sprachliche Funktion, sowie niedrigere MLD MR Severity Scores aufweisen (52). Die Unterschiede in den Krankheitsverläufen reichen jedoch von einer vollständigen Stabilisierung bis hin zu einer massiven Progredienz (52). Um diese variablen Langzeitergebnisse zu verstehen, ist es unserer Meinung nach notwendig, den Zeitpunkt der Verschlechterung, demnach die ersten Jahre nach der Transplantation, genauer zu untersuchen. Daher soll nun in dieser Dissertation der klinische Krankheitsverlauf in den ersten 24 Monaten nach HSZT, dem Zeitfenster bis zum Wirkungseintritt (44,48–52), analysiert werden, um herauszufinden, zu welchem Zeitpunkt nach der Transplantation eine Stabilisierung oder ein Fortschreiten der Erkrankung eintritt und ob eine Korrelation zwischen dem frühen und dem langfristigen Ergebnis vorliegt. Da bereits bekannt ist, dass die Gruppe der transplantierten Patient\*innen in Kinder mit stabiler und progredienter Erkrankung unterteilt werden kann, wollen wir daraufhin die Gruppe der Kinder, die unter einem progredienten Krankheitsverlauf litt, weiter untersuchen. Zum einen wollen wir uns auf klinisch relevante prädiktive Werte konzentrieren, um besser zu verstehen, welche Patient\*innen auch zukünftig von der HSZT profitieren können. Darüber hinaus ist nicht nur die Frage diskussionswürdig, ob die HSZT einen positiven Einfluss auf den Krankheitsverlauf hat oder nicht, sondern vor allem die Frage, ob die HSZT eventuell auch den Krankheitsverlauf negativ beeinflussen könnte. Deshalb wollen wir in einem zweiten Schritt die transplantierten Patient\*innen, die unter einem progredientem Krankheitsverlauf litten, mit der Kohorte nicht-

transplantiertes Patient\*innen vergleichen, um herauszufinden, ob die HSZT möglicherweise ein Fortschreiten der Erkrankung nach der Transplantation auslösen oder begünstigen könnte.

Daraus ergeben sich folgende Fragestellungen:

1. Frühverlauf nach HSZT
  - a. Wie entwickeln sich die grobmotorische und kognitive Funktion, elektrophysiologische Parameter und Veränderungen in der MRT in den ersten 24 Monaten nach HSZT?
  - b. Falls eine Krankheitsprogredienz eintritt, zu welchem Zeitpunkt tritt diese im Krankheitsverlauf auf?
  - c. Welche Patient\*innen sind davon betroffen?
  - d. Korreliert der frühe Verlauf mit dem Langzeit-Outcome?
2. Welche prädiktiven Faktoren für einen stabilen Verlauf nach HSZT ergeben sich aus den vorgelegten Daten?
3. Kann die HSZT möglicherweise den Krankheitsprogress triggern?

## **2 Patient\*innen, Material und Methoden**

Die wesentlichen Ergebnisse dieser Promotionsschrift wurden bereits publiziert: Beschle J et al. „Early clinical course after hematopoietic stem cell transplantation in children with juvenile metachromatic leukodystrophy“, Journal Molecular and Cellular Pediatrics 2020 (65). Die Abbildungen 2,3,4,5 und 6 sind inhaltsgleich mit den figures 1 A und B, 2 A und B und 3 der Publikation, ebenso die Tabellen 1 und 2 mit der table 1 und dem supplementary material.

### **2.1 Patient\*innen**

Für diese Studie wurden Kinder mit juveniler MLD eingeschlossen. MLD wurde anhand der verringerten ARSA-Aktivität in den Leukozyten des Blutes, sowie der Ausscheidung von Sulfatiden im Urin diagnostiziert. Die Diagnose wurde durch eine genetische Mutationsanalyse, sowie typische Veränderungen in der MRT bestätigt. Die juvenile Ausprägungsform wurde anhand des Alters bei Krankheitsbeginn (2,5-16 Jahre) bestimmt. Alle präsymptomatischen Kinder wurden aufgrund eines erkrankten Geschwisterkindes untersucht und bereits MRT-Veränderungen und/oder reduzierte NLG gemessen. Zusätzlich wurde genetisch ein Genotyp passend zur juvenilen Verlaufsform, sowie der juvenile Krankheitsverlauf des Geschwisterkindes berücksichtigt. Alle Kinder wurden an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen betreut und behandelt.

Für die Fragen nach dem Frühverlauf nach HSZT und möglichen prädiktiven Werten wurden nur Kinder beobachtet, die einer HSZT unterliefen. Die Langzeitverläufe dieser Kinder wurden bereits publiziert (52).

Um die Frage nach einer möglichen negativen Beeinflussung auf den Krankheitsverlauf durch die HSZT zu beantworten, wurden transplantierte Kinder mit nicht-transplantierten Kindern verglichen.

Die klinischen Daten wurden über die Datenbank „German Leukodystrophy Network“ (Leokonet) (31,32) erfasst und durch Informationen aus Arztbriefen und klinischer Dokumentation vervollständigt. Die Studie wurde durch das lokale Ethikkomitee der Universität Tübingen genehmigt (Nr. 401/2005).

### 2.1.1 Transplantierte Patient\*innen

In die Gruppe der transplantierten Kinder wurden all diejenigen Kinder mit juveniler MLD eingeschlossen, die zwischen 2001 und 2015 an der Kinderklinik Tübingen transplantiert wurden. Dies betraf 12 Kinder (8 weibliche, 4 männliche). Das Alter bei Erkrankungsbeginn (Onset) lag im Median bei acht Jahren (Spannweite: 4,3 – 13,1), drei Kinder wurden bereits präsymptomatisch diagnostiziert. Das Alter bei HSZT lag im Median bei 11,6 Jahren (Spannweite: 5-18,2 Jahre) und der Beobachtungszeitraum nach HSZT im Median bei 6,75 Jahren (Spannweite: 3 – 13,5). In Tabelle 1 werden die Eigenschaften der Patient\*innen zu Untersuchungsbeginn zusammengefasst.

Tabelle 1: Eigenschaften der Patient\*innen zu Untersuchungsbeginn

ID	Alter bei Onset	Alter bei HSZT+Jahr	GMFC.MLD bei HSZT	GMFM bei HSZT (%)	FSIQ bei HSZT	MR-Score bei HSZT	NLG bei HSZT (m/s)	Konditionierung	Klassifikation
1	13,1 spät-juvenil	13,9 2014	1	99,4	82	20	47	Treosulfan Fludarabin	schnell progredient
2	4,3 früh-juvenil	6,0 2009	1	93,1	98	17	15	Treosulfan Fludarabin	stabil
3	7,3 spät-juvenil	11,8 2015	1	99,5	79	18	22	Treosulfan Fludarabin	schnell progredient
4	9,8 spät-juvenil	11,6 2014	0	100	77	16	41	Treosulfan Fludarabin	stabil
5	4,8 früh-juvenil	4,9 2001	1	99	100	14	31	Busulfan Cyclophosphamid	stabil

6	4,3 früh-juvenil	5,2 2015	1	89,6	84	19	29	Treosulfan Fludarabin	schnell progredient
7	präsymptomatisch	13,7 2008	0	100	112	0	34	Busulfan Cyclophosphamid	stabil
8	präsymptomatisch	15,2 2006	0	100	114	11	42	Busulfan Cyclophosphamid	stabil
9	9,5 spät-juvenil	18,2 2010	0	98	68	21	50	Treosulfan Fludarabin	stabil
10	präsymptomatisch (Onset Schwester 9,5)	14,8 2012	0	97	91	7	53	Treosulfan Fludarabin	stabil
11	11,4 spät-juvenil	13,6 2015	1	99,4	103	18	30	Treosulfan Fludarabin	schnell progredient
12	8,1 spät-juvenil	10,1 2009	1	98,6	66	20	17	Treosulfan Fludarabin	schnell progredient

### 2.1.2 Nicht-transplantierte Patient\*innen

In die Kontrollgruppe wurden diejenigen Kinder eingeschlossen, bei denen eine juvenile Form der MLD diagnostiziert werden konnte, aber keine Therapieform (HSZT, ERT, Gentherapie) zum Einsatz kam. Dies betraf 35 Patient\*innen (16 weibliche, 19 männliche). Alle Kinder wurden an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen diagnostiziert und betreut. Das Alter bei Onset lag im Median bei 6,9 Jahren (Spannweite: 2,7 – 15). Klinische Eigenschaften wurden bereits publiziert (52).

## **2.2 Laborparameter zur Diagnosestellung**

### **2.2.1 ARSA-Aktivität**

Die Aktivität des Enzyms Arylsulfatase A wird mittels eines enzymatischen Nachweisverfahrens gemessen. Den aus EDTA- oder CPDA-Blut gewonnenen Leukozyten wird ein künstliches Substrat (Nitrocatecholsulfat) zugeführt, welches durch die ARSA enzymatisch abgebaut wird. Die Extinktion des entstandenen Hydrolyseprodukts kann mittels Photometrie gemessen werden. Die ARSA-Aktivitätsmessungen wurden im metabolischen Labor der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen durchgeführt.

### **2.2.2 Sulfatidkonzentration im Urin**

Die Quantifizierung der Sulfatidkonzentration im 24-Stunden-Urin geschieht mittels Dünnschichtchromatografie und wurde ebenfalls im metabolischen Labor der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin durchgeführt.

## **2.3 Hämatopoetische Stammzelltransplantation**

Der eigentlichen HSZT ist eine Konditionierung vorgeschaltet. Jene dient dem Ziel, beim Empfänger eine Immunsuppression zu induzieren, um das Engraftment zu sichern und ein primäres Graft Failure zu verhindern. Darüber hinaus gilt es, eine anti-leukämische Wirksamkeit zu erzielen, sowie die Myeloablation zu induzieren. Die Konditionierung erfolgte bei den neun Patient\*innen, die nach 2009 transplantiert wurden, unter Anwendung folgender Medikamente: Fludarabine (5 x 30 mg/m<sup>2</sup>), Treosulfan (3 x 14 g/m<sup>2</sup>), Thiotepa (1 x 10 mg/kg KG) und Thymoglobulin (10 mg/kg KG) oder Antithymocyte Globulin (Fresenius/Neovii) (3 x 10 mg/kg KG oder 3 x 20 mg/kg KG). Im Falle einer Transplantation vor 2009 ( $n = 3$ ) kamen Busulfan (4 x 3,2 mg/kg KG), Cyclophosphamid (4 x 50 mg/kg KG oder 2 x 60 mg/kg KG) und Thymoglobulin (10 mg/kg KG) oder Antithymocyte Globulin (Fresenius/Neovii) (3 x 10 mg/kg KG) zum Einsatz. Der Wechsel von Busulfan zu Treosulfan im Konditionierungsschema lässt sich auf das bessere Nebenwirkungsprofil von Treosulfan bei Kindern zurückführen. Vor der Transplantation wurde die ARSA-Aktivität in den Spenderzellen bestimmt, um eine normale Enzymaktivität vorauszusetzen und eine niedrige Aktivität aufgrund von genetischer Heterogenität oder Pseudodefizienz zu verhindern (1).

Für die HSZT wurden hämatopoetische Stammzellen (HSZ) aus dem Knochenmark ( $n = 9$ ) oder aus dem peripheren Blut ( $n = 3$ ) gewonnen. Neun Kinder erhielten HSZ von HLA-kompatiblen, nicht-verwandten und drei Kinder von HLA-kompatiblen, verwandten Spendern. Tabelle 1 gibt einen zusammenfassenden Überblick über die hämatologische Behandlung vor und während HSZT.

Tabelle 2: Hämatologische Behandlung vor und während HSZT

ID	Sex	Alter bei HSZT +Jahr	Spender	Konditionierung mit Dosierung	GvHD Prophylaxe	Zelldosis [TNC/kg]
1	männlich	13,9 2014	MUD (10/10) BM	Fludarabin 5 x 30 mg/m <sup>2</sup> Treosulfan 2 x 14 g/m <sup>2</sup> ATG Fresenius 3 x 20mg/kg Thiotepa 1 x 10 mg/kg	MTX CsA	CD34 <sup>+</sup> 5.19x10 <sup>6</sup> CD3 <sup>+</sup> 3693.76x10 <sup>4</sup>
2	männlich	6,0 2009	MUD (10/10) PBSC CD3/CD19	Fludarabin 5 x 30 mg/m <sup>2</sup> Treosulfan 3 x 14 g/m <sup>2</sup> Thymoglobulin 10 mg/kg Thiotepa 1 x 10 mg/kg	MTX CsA	CD34 <sup>+</sup> 7.04x10 <sup>6</sup> CD3 <sup>+</sup> 5007.55x10 <sup>4</sup>
3	männlich	11,8 2015	MUD (9/10) BM	Fludarabin 5 x 30 mg/m <sup>2</sup> Treosulfan 3 x 14 g/m <sup>2</sup> Thymoglobulin 10 mg/kg Thiotepa 1 x 10 mg/kg	MTX CsA	CD34 <sup>+</sup> 4.78x10 <sup>6</sup> CD3 <sup>+</sup> 3376.49x10 <sup>4</sup>
4	weiblich	11,6 2014	MMUD (8/10) PBSC	Fludarabin 5 x 30 mg/m <sup>2</sup> Treosulfan 3 x 14 g/m <sup>2</sup> ATG Fresenius 3 x 15 mg/kg Thiotepa 1 x 10mg/kg	MTX CsA Mycophenolat-Mofetil	CD34 <sup>+</sup> 22.32x10 <sup>6</sup> CD3 <sup>+</sup> 2495.06x10 <sup>4</sup>
5	weiblich	4,9 2001	MUD (10/10) PBSC	Busulfan 4 x 3.2 mg/kg Cyclophosphamid 4 x 50 mg/kg ATG Fresenius 3 x 10 mg/kg	MTX CsA	CD34 <sup>+</sup> 10.4x10 <sup>6</sup> CD3 <sup>+</sup> 420.0x10 <sup>4</sup>
6	weiblich	5,2 2015	MUD (10/10) BM	Fludarabin 5 x 30 mg/m <sup>2</sup> Treosulfan 3 x 14 g/m <sup>2</sup> Thymoglobulin 10 mg/kg Thiotepa 1 x 10 mg/kg	MTX CsA	CD34 <sup>+</sup> 3.43x10 <sup>6</sup> CD3 <sup>+</sup> 5081.31x10 <sup>4</sup>
7	weiblich	13,7 2008	MUD (10/10) BM	Busulfan 4 x 3.2 mg/kg Cyclophosphamid 2 x 60 mg/kg Thymoglobulin 10 mg/kg	MTX CsA	CD34 <sup>+</sup> 1.76x10 <sup>6</sup> CD3 <sup>+</sup> 1061.64x10 <sup>4</sup>
8	weiblich	15,2 2006	MUD (10/10) BM	Busulfan 4 x 3.2 mg/kg Cyclophosphamid 2 x 60 mg/kg Thymoglobulin 10 mg/kg	MTX CsA	CD34 <sup>+</sup> 5.18x10 <sup>6</sup> CD3 <sup>+</sup> 3553.91x10 <sup>4</sup>
9	weiblich	18,2 2010	MFD (10/10) BM	Fludarabin 5 x 30 mg/m <sup>2</sup> Treosulfan 3 x 14 g/m <sup>2</sup>	MTX CsA	CD34 <sup>+</sup> 3.05x10 <sup>6</sup>

				Thymoglobulin 10 mg/kg Thiotepa 1 x 10mg/kg		CD3 <sup>+</sup> 2184.54x10 <sup>4</sup>
10	männlich	14,8 2012	MUD (10/10) BM	Fludarabin 5 x 30 mg/m <sup>2</sup> Treosulfan 3 x 14 g/m <sup>2</sup> Thymoglobulin 10 mg/kg Thiotepa 1 x 10mg/kg	MTX CsA	CD34 <sup>+</sup> 2.29x10 <sup>6</sup> CD3 <sup>+</sup> 3165.57x10 <sup>4</sup>
11	weiblich	13,6 2015	MFD (10/10) BM	Fludarabin 5 x 30 mg/m <sup>2</sup> Treosulfan 3 x 14 g/m <sup>2</sup> Thymoglobulin 10 mg/kg Thiotepa 1 x 10 mg/kg	CsA Tacrolimus	CD34 <sup>+</sup> 2.85x10 <sup>6</sup> CD3 <sup>+</sup> 3863.48x10 <sup>4</sup>
12	weiblich	10,1 2009	MFD (10/10) BM	Fludarabin 5 x 30 mg/m <sup>2</sup> Treosulfan 3 x 14 g/m <sup>2</sup> Thymoglobulin 10 mg/kg	CsA	CD34 <sup>+</sup> 7.08x10 <sup>6</sup> CD3 <sup>+</sup> 3142.51x10 <sup>4</sup>

## 2.4 Analyse des Frühverlaufs nach HSZT

Innerhalb der ersten zwei Jahre nach HSZT wurden die Patient\*innen alle sechs Monate untersucht, danach einmal pro Jahr. In den ersten 5 Jahren nach HSZT wurden in regulären Nachsorgeuntersuchungen die folgenden Parameter erhoben.

### 2.4.1 Klinische Parameter

#### 2.4.1.1 Grobmotorische Funktion

Um die grobmotorische Funktion zu klassifizieren und zu beurteilen wurde der GMFM-88 und die GMFC.MLD angewandt.

Bei transplantierten Kindern wurde der Gross Motor Function Measure (GMFM-88) angewandt, ein Klassifikationssystem zur Beurteilung von Kindern mit neurologischen Störungen (66). Er wurde für Kinder mit einer Cerebralparese (CP) entwickelt (66), eine überarbeitete Version (GMFM-66) erwies sich als zuverlässig und gültig (67). 2008 wurde er von Biffi et al. erstmalig auch bei Kindern mit MLD angewandt (14).

Die aktuelle Version des GMFM (GMFM-88) besteht aus 88 Items, die in fünf Dimensionen eingeteilt werden: A: Liegen und Rollen (17 Items), B: Sitzen (20 Items), C: Knien und Kriechen (14 Items), D: Stehen (13 Items), E: Laufen, Rennen, Springen (24 Items). Für jede Übung werden Punkte vergeben: 0=initiiert die Bewegung nicht, 1=initiiert Bewegung, 2=vervollständigt Bewegung teilweise, 3=vervollständigt Bewegung. Danach werden die Punkte addiert und der Anteil an

vervollständigten Bewegungen in Prozent sowohl für die einzelnen Dimensionen, als auch als Total Score für alle Dimensionen angegeben.

Schwierigkeiten bei der Anwendung ergeben sich vor allem daraus, dass der GMFM-88 auf Anweisungen und nicht nur auf Beobachtung basiert (68). Somit können gesunde Kinder erst ab einem Alter von 5 Jahren alle Items durchführen (66). Darüber hinaus ist bei Kindern mit der juvenilen MLD ein schlechteres Ergebnis nicht immer Folge einer tatsächlichen motorischen Verschlechterung, sondern kann auch durch die eingeschränkte kognitive Funktion und die damit einhergehenden Probleme beim Verstehen der Anweisungen hervorgerufen werden (68). Limitiert wird die Anwendung des GMFM-88 auch dadurch, dass er nur pro- und nicht retrospektiv angewandt werden kann. Dadurch können anfängliche Symptome, die meist nur retrospektiv aus den Informationen der betreuenden Personen gewonnen werden können, nicht in die Bewertung durch den GMFM-88 einbezogen werden (68).

Aus diesen Gründen wurde bei den transplantierten Kindern zusätzlich, sowie bei nicht-transplantierten Kindern alleinig, die Gross Motor Function Classification für MLD (GMFC.MLD) angewandt. Diese entstand aus der von Palisano et al. 1997 entwickelten GMFCS zur Beschreibung von Kindern, die an einer Zerebralparese erkrankt waren (69,70). Beruhend auf der Beobachtung von alltäglichen Fähigkeiten kann die GMFC.MLD bereits ab einem Alter von 18 Monaten angewandt werden und ermöglicht auch eine retrospektive Klassifizierung. Sie beinhaltet sieben Stufen, wobei Stufe 0 keine Auffälligkeiten der grobmotorischen Funktion und Stufe 6 den Verlust aller grobmotorischen Funktionen, einschließlich der Kopfkontrolle, beinhaltet (68).

Tabelle 3: Gross Motor Function Classification für MLD (GMFC.MLD)(68)

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 <b>und</b> Fortbewegung, z.B. Krabbeln. Gehen auch mit Unterstützung nicht möglich
4	a) Freies Sitzen, aber keine Fortbewegung <b>oder</b> b) Kein freies Sitzen, aber Fortbewegung, z.B. Krabbeln
5	Keine Fortbewegung und kein Sitzen ohne Unterstützung, Kopfkontrolle erhalten
6	Verlust jeglicher Fortbewegung, keine Kopf- und Rumpfkontrolle mehr erhalten

Die Durchführung des GMFM-88, sowie die Einteilung in die GMFC.MLD erfolgten durch eine erfahrene Ärztin (C.K) und eine ausgebildeten Physiotherapeutin (C.R.).

#### 2.4.1.2 Kognitive Funktion

Um kognitive Veränderungen erkennen zu können, wurde der Intelligenzquotient (IQ) als Messwert erhoben. Aufgrund des langen Beobachtungszeitraumes und der Veränderung des Alters der Patient\*innen kamen unterschiedliche Testverfahren zur Anwendung: Hamburg Wechsler Intelligenztest für Kinder (HAWIK) III – V, Wechsler Intelligenztest für Erwachsene (WIE) III - V, Kaufmann Assessment Battery for Children (K-ABC) I – II. Die Testung erfolgte durch eine erfahrene Psychologin (U.B.)

#### 2.4.2 Elektrophysiologische Parameter

Die Auswirkungen der Akkumulierung der Sulfatide zeigt sich sowohl in zentraler, als auch in peripherer Demyelinisierung. Um eine Einschätzung der peripheren Polyneuropathie zu erhalten, wurde die motorische NLG des N. tibialis gemessen. Hierbei werden über die elektrische Reizung des Nervs künstlich Muskelzuckungen

erzeugt, welche wiederum über Elektroden registriert werden können. Aus dem Quotienten der Strecke zwischen Reiz und Reizantwort und der dafür benötigten Zeit errechnet sich so die NLG, die bei demyelinisierenden Erkrankungen typischerweise erniedrigt ist. Die normale NLG wurde als  $>40$  m/s definiert (71). Die Messung wurde von einem erfahrenen Arzt (A.G.) durchgeführt.

### **2.4.3 Veränderungen im Gehirn**

Der MLD MR Severity Score wurde angewandt, um Veränderungen der WM zu quantifizieren. Hierbei wird das Gehirn auf T2 und FLAIR-Sequenzen in unterschiedliche Regionen unterteilt, in denen das jeweilige Ausmaß der Demyelinisierung mit Hilfe eines Punktesystems bestimmt wird. 0 Punkte stehen für keine Veränderung, 1 Punkt für leichte Hyperintensitäten und 2 Punkte für dichte Hyperintensitäten (72). Zusätzlich wird die Atrophie bestimmt. Es ergeben sich Möglichkeiten zwischen 0 und 34 Punkten, wobei die Einteilung der Schwere der Gehirnveränderungen wie folgt interpretiert wird: leichte Erkrankung (score: 1-6), moderate Erkrankung (score: 7-15), schwere Erkrankung (score: 16-34) (72). Alle MRTs wurden von einem erfahrenen Prüfer ausgewertet (S.G.).

### **2.4.4 Hämatologische Parameter**

Aufgrund der anfänglichen Knochenmarksaplasie und der sich erst langsam regenerierenden Blutbildung besteht aufgrund niedriger Leukozytenzahl ein erhöhtes Infekt- und Mortalitätsrisiko. Untersucht wurde transplant-bedingte Mortalität, sowie das Auftreten von Komplikationen (GvHd, VOD, Sepsis, virologische Infektion, fungale Infektion).

Die Anzahl der neutrophilen Granulozyten gilt als Maß für die Regeneration der Blutbildung und stellt gleichzeitig ein klinisch wichtiges Kriterium dar. Als Teil des Leukozytensystems werden sie im Knochenmark von HSZ gebildet und dienen als Bestandteil des zellulären Immunsystems unter anderem der Abwehr von Bakterien. Neutropenien werden wie folgt eingeteilt: schwach ( $1000-1500/\mu\text{l}$ ), mäßig ( $500-1000/\mu\text{l}$ ) und schwer ( $<500/\mu\text{l}$ ), gemessen als absolute Neutrophilenzahl (ANC). Erhoben wurde die Zeit in Tagen bis zum Anstieg der neutrophilen Granulozyten über die Grenze der schweren Neutropenie ( $>500/\mu\text{l}$ ) hinaus.

Darüber hinaus wurde die Zeit bis zum Auftreten eines kompletten Chimärismus (CC) erhoben. Als Chimärismusanalyse wird die genotypische Untersuchung der

Hämatopoese nach Transplantation bezeichnet. Sie dient der Frage, ob die regenerierte Blutbildung vom Empfänger oder vom Spender stammt. Im Falle einer vollständigen Blutbildung durch die Spenderzellen spricht man von vollständigem oder kompletten Chimärismus. Abweichungen davon stellen transienter, stabiler und progressiver gemischter Chimärismus dar. Darüber hinaus kann es auch zum Chimärismusverlust oder zum Splitschimärismus kommen.

#### **2.4.5 Kategorisierung der Outcome-Gruppen**

Die Patient\*innen wurden nach ihrem klinische Outcome den zwei Kategorien „stabiler Krankheitsverlauf“ oder „progredienter Krankheitsverlauf“ zugeordnet: Als stabil wurde ein Krankheitsverlauf bei Verlust in der GMFC.MLD von nicht mehr als einem Level und/oder einer IQ-Verschlechterung von weniger als 30 Punkten ( $<2$  SD) definiert, ein progredienter Krankheitsverlauf dementsprechend, wie dies bereits früher zur Anwendung kam (52).

Mit Hilfe dieser Definition, verglichen wir das frühe Outcome (innerhalb von 24 Monaten nach HSZT) mit den Langzeitergebnissen ( $>24$  Monate nach HSZT) mit der Frage, ob es nur in den ersten Jahren zu einer klinischen Verschlechterung kommt oder jene auch danach auftreten kann. Hierfür verglichen wir GMFC.MLD Levels zwei Jahre nach HSZT mit jenen am Ende des Beobachtungszeitraums. Anhaltende Krankheitsverschlechterung wurde definiert als mehr als ein Level Verlust in der GMFC.MLD im Zeitraum zwischen zwei Jahren nach HSZT und dem Ende des Beobachtungszeitraums.

### **2.5 Prognostische Werte für das frühe Outcome**

Inwiefern sich die beiden Gruppen in ausgewählten Parametern zu Beginn der Erkrankung unterscheiden, wurde mit Hilfe des Pearson's chi-squared Test untersucht. Die Ausgangswerte wurden in Kategorien, ausgehend von bereits veröffentlichten prognostischen Markern, eingeteilt (53,58). Untersucht wurde normale/pathologische grobmotorische Funktion (GMFM-88 100% vs  $<100\%$  und GMFC.MLD 0 vs.  $\geq 1$ ), normaler/pathologischer IQ ( $\geq 85$  vs  $< 85$ ), normale/pathologische NLG ( $\geq 40$  m/s vs  $< 40$ m/s) und ein MLD MR Severity Score  $\leq 17$  vs.  $> 17$  (52). Mit Hilfe des Mann-Whitney U Tests wurde das Alter bei Onset, sowie das Alter bei HSZT zwischen den beiden Outcome-Gruppen verglichen.

Bei Patient\*innen, die zum Zeitpunkt der HSZT noch präsymptomatisch waren, wurde das Alter bei Onset des erkrankten Geschwisterkindes, falls jenes vorlag, verwendet.

## **2.6 Untersuchung der Krankheitsprogredienz bei transplantierten vs. nicht-transplantierten Patient\*innen**

Um der Frage nachzugehen, ob ein Unterschied im Krankheitsverlauf zwischen transplantierten und nicht-transplantierten Patient\*innen erkennbar wird, wurde die Zeit zwischen dem Eintritt in GMFC.MLD Level 1 und der Verschlechterung auf GMFC.MLD Level 2 zwischen transplantierten und nicht-transplantierten Patient\*innen beobachtet. Statistisch kamen Überlebenszeitanalyse, sowie der Log-Rank Test zum Einsatz. Es gilt als bekannt, dass die schnelle Verschlechterung der Symptomatik bei Patient\*innen mit juveniler MLD zwischen GMFC.MLD Level 2 und 5 stattfindet (31). Die Zeit zwischen Level 1 und 2 diente in dieser Studie dazu, die Phase zwischen ersten Gangunsicherheiten (Level 1) und dem Beginn der schnellen Krankheitsprogredienz, die mit dem Eintritt in Level 2 – Verlust des freien Gehens beginnt, zu definieren.

Die statistische Analyse wurde weniger als bestätigend, sondern eher als explorativ interpretiert, da es sich um eine retrospektive Studie mit relativ kleiner Anzahl an Teilnehmer\*innen handelte. Deshalb werden alle  $p$ -Werte als beschreibend betrachtet. Die statistische Analyse wurde mit Hilfe von SPSS durchgeführt.



### 3.1.3 Kognitive Funktion (Abbildung 3)

Der IQ war zum Zeitpunkt der HSZT sehr variabel (Mittelwert: 89,25, Spannweite: 66-114). Dennoch konnte ein Unterschied im Verlauf festgestellt werden. Die kognitive Funktion verschlechterte sich bei sieben Patient\*innen nicht oder nur gering ( $\leq 2$  SD, Mittelwert: 8,57, Spannweite: 0-20) und hielt sich anschließend stabil über den gesamten Beobachtungszeitraum. Bei fünf Patient\*innen trat eine Verschlechterung der kognitiven Funktion innerhalb der ersten 12 bis 18 Monate nach HSZT ein ( $> 2$  SD, Mittelwert: 37,8, Spannweite: 31-44), wobei es anschließend auch hier zu einer Stabilisierung kam, allerdings bei weit geringerem IQ (IQ < 60, Mittelwert: 45,8, Spannweite: 40 -59). Drei dieser fünf Patient\*innen verschlechterten sich derartig (IQ < 40), dass eine Testung im Verlauf nicht mehr möglich war.

Auffällig war, dass diejenigen Patient\*innen, die sich grobmotorisch verschlechtert hatten, auch eine kognitive Verschlechterung erfuhren. Wenn es demnach zu einer Verschlechterung der Symptomatik innerhalb der ersten 12 bis 18 Monate kam, betraf jene immer sowohl die grobmotorische, als auch die kognitive Funktion.

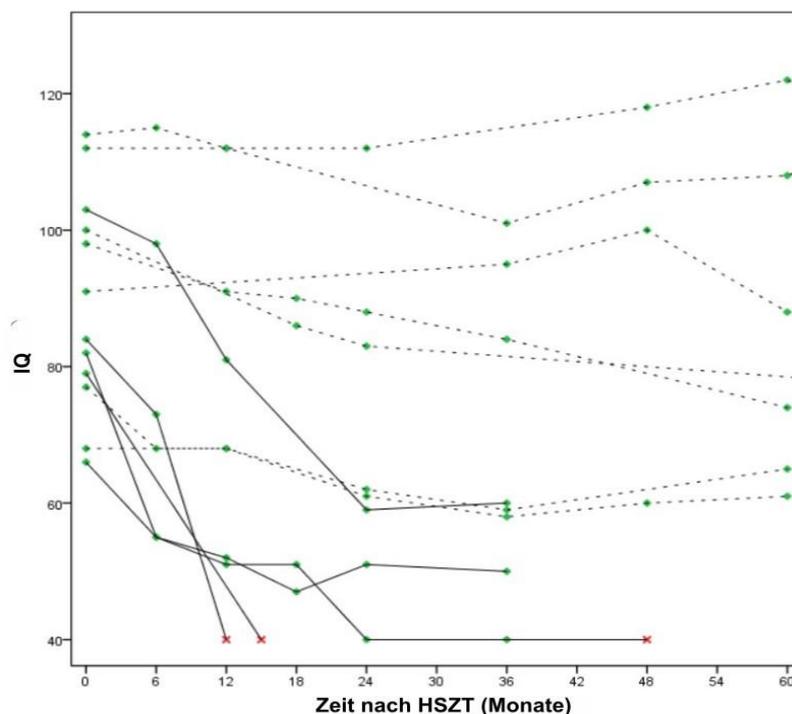


Abbildung 3: Kognitive Funktion bewertet durch IQ über die Zeit. Patient\*innen mit stabilem Krankheitsverlauf werden durch gestrichelte, jene mit progredientem Krankheitsverlauf durch durchgezogene Linien dargestellt. Patient\*innen, die nicht mehr getestet werden konnten, werden in Rot dargestellt.

### 3.1.4 Nervenleitgeschwindigkeit (Abbildung 4)

Es zeigten sich keine relevanten Veränderungen der NLG des N. tibialis nach HSZT. Bei fünf Patient\*innen wurde eine NLG im normalen Spektrum gemessen, wobei die anderen sieben Patient\*innen pathologische Werte zeigten. Sowohl pathologische als auch normale Werte blieben relativ stabil über den gesamten Beobachtungszeitraum hinweg. Ob ein/e Patient/in pathologische oder normale Werte der NLG des N. tibialis aufwies, korrelierte nicht mit der Verschlechterung der grobmotorischen Funktion.

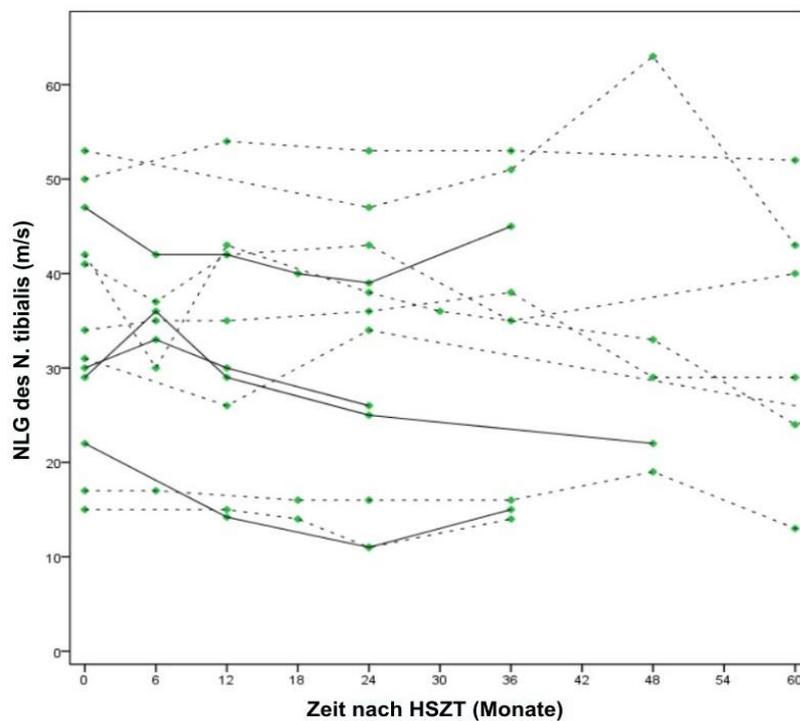


Abbildung 4: NLG des N. tibialis über die Zeit. Patient\*innen mit stabilem Krankheitsverlauf werden durch gestrichelte, jene mit progredientem Krankheitsverlauf durch durchgezogene Linien dargestellt

### 3.1.5 MLD MR Severity Score (Abbildung 5)

Der MLD MR Severity Score nahm bei den meisten Patient\*innen in den ersten Monaten nach HSZT zu, stabilisierte sich jedoch danach. Die Zunahme des MLD MR Severity Scores in den ersten 24 Monaten betrug bei Patient\*innen, die sich klinisch verschlechterten, im Median 5,6 (Spannweite: 2-10), bei Patient\*innen, die sich klinisch stabilisierten 2,3 (Spannweite: 0-6). Patient\*innen, die sich klinisch verschlechterten zeigten bei HSZT im MLD MR Severity Score im Median einen Wert von 19 (Spannweite: 18-20), Patient\*innen der stabilen Outcome-Gruppe einen Wert von 12,3 (Spannweite: 0-21). Bei zwei Patient\*innen stabilisierte sich der MLD MR Severity-Score nach der HSZT. Die Verschlechterung trat vor allem in den ersten 12 Monaten nach HSZT ein, wobei bei Patient\*innen, die bereits mit höheren Scores transplantiert wurde, eine längere Progredienz bis zu 24 oder 36 Monaten beobachtet werden konnte. Auch bei diesen Patient\*innen trat danach eine Stabilisierung ein. Bei zwei Patient\*innen nahm er MLD MR Severity Score sogar leicht ab.

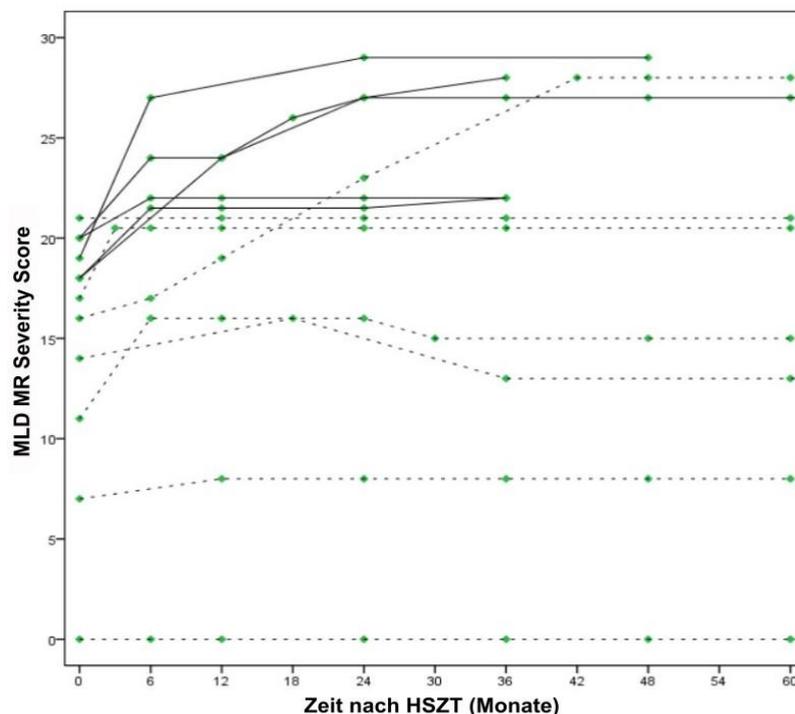


Abbildung 5: MLD MR Severity Score über die Zeit. Patient\*innen mit stabilem Krankheitsverlauf werden durch gestrichelte, jene mit progredientem Krankheitsverlauf durch durchgezogene Linien dargestellt.

### **3.1.6 Vergleich zwischen frühem und langfristigen Outcome**

Über die ersten beiden Jahre nach HSZT war bei fünf von 12 Patient\*innen eine schwere Progredienz der Symptomatik zu beobachten. Dies zeigte sich sowohl in klinischen Parametern (grobmotorische und kognitive Funktion) als auch in der MRT (MLD MR Severity Score). Von den sieben Patient\*innen, die über die ersten beiden Jahre stabil geblieben waren, kam es bei zwei Patient\*innen zu einer späteren Progredienz. Ein Patient verschlechterte sich fünf Jahre nach HSZT im GMFM-88 auf 50% (s. Abb. 1), wobei sich dies in der GMFC.MLD nur in einer geringen Verschlechterung von einem Level (von Level 1 auf Level 2) zeigte. Demnach erfüllte der Patient immer noch die Kriterien für ein stabiles langfristiges Outcome (52). Die andere Patientin verschlechterte sich 13 Jahre nach HSZT grobmotorisch von Level 1 der GMFC.MLDs auf Level 3, verlor demnach die Fähigkeit des selbstständigen Gehens und war an einen Rollstuhl gebunden. Kurz zuvor hatte es eine Phase längerer Immobilisation aufgrund einer Pneumonie gegeben, der sich eine orthopädische Korrektur ihrer beidseitigen Fußdeformitäten, die sie aufgrund der Neuropathie entwickelt hatte, anschloss. Veränderungen der kognitiven Funktion konnten nicht beobachtet werden.

### **3.1.7 Hämatologisches Outcome (Tabelle 4)**

Alle Patient\*innen erreichten einen kompletten Chimärismus ( $n = 10$  nach 30 Tagen,  $n = 2$  nach 60 Tagen). Die Komplikationsrate war gering. Fünf Patient\*innen erkrankten an einer GvHD Grad 1, wobei alle Patient\*innen gut auf die Behandlung der GvHD reagierten. Es kam zu keiner Transplantatabstoßung. Virämie und VOD als Komplikationen traten jeweils in einem Fall auf. Sepsis/SIRS oder Pilzinfektionen wurden nicht beobachtet. Es gab keinen Fall von transplantationsbedingter Mortalität. Tabelle 4 fasst das hämatologische Outcome zusammen.

Tabelle 4: Hämatologisches Outcome

<b>ID</b>	<b>Chimärismus</b>	<b>ANC &gt;500 <math>\mu</math>l [Tag]</b>	<b>Komplikationen</b>
<b>1</b>	>95%	16	-
<b>2</b>	>95%	11	akute GvHD I°
<b>3</b>	>95%	14	akute GvHD I°
<b>4</b>	>95%	10	akute GvHD I°
<b>5</b>	>95%	12	VOD
<b>6</b>	>95%	15	Virämie
<b>7</b>	>95%	18	-
<b>8</b>	>95%	15	-
<b>9</b>	>95%	14	akute GvHD I°
<b>10</b>	>95%	15	-
<b>11</b>	>95%	11	-
<b>12</b>	>95%	10	akute GvHD I°

### **3.2 Prognostische Werte für den frühen Krankheitsverlauf (Tabelle 5)**

Die grobmotorische Funktion zum Zeitpunkt der HSZT war von großer Bedeutung für den frühen Krankheitsverlauf. Eine Stabilisierung des Krankheitsverlaufs wurde bei Patient\*innen mit Level 0 in der GMFC.MLD ( $p = 0,013$ ,  $n = 5$ ) und einem GMFM-88 von 100% ( $p = 0,003$ ,  $n = 6$ ) zum Zeitpunkt der HSZT erzielt.

Für die kognitive Funktion, sowie die periphere Neuropathie, ergaben sich keine Unterschiede innerhalb der Outcome-Gruppen in Bezug auf die Werte des IQs und der NLG zum Zeitpunkt der HSZT. Der Mittelwert des IQs lag bei 94,6 (Spannweite: 68 – 114) innerhalb der Gruppe mit stabilem, sowie bei 82,8 (Spannweite: 66 – 103) bei Patient\*innen mit progredientem Krankheitsverlauf. Zum Zeitpunkt der HSZT wurde bei fünf Patient\*innen eine normale NLG (stabile Gruppe  $n = 4$ , progrediente Gruppe  $n = 1$ ) und bei sieben Patient\*innen eine pathologische NLG (stabile Gruppe  $n = 3$ , progrediente Gruppe  $n = 4$ ) gemessen.

Unterschiede wurden jedoch im MLD MR Severity Score beobachtet. Innerhalb der stabilen Outcome-Gruppe wurde ein Mittelwert von 12,3 (Spannweite: 0 – 21), in der rasch progredienten Gruppe ein Mittelwert von 19,8 (Spannweite: 18 – 24) gemessen. Ein MLD MR Severity Score über 17 korrelierte mit einem progredientem Krankheitsverlauf nach HSZT ( $p = 0,003$ ).

Das Alter bei Krankheitsbeginn unterschied sich nicht zwischen den fünf Patient\*innen mit rasch progredientem Krankheitsverlauf (Mittelwert: 8,8 Jahre, Spannweite: 4,3 – 13,1) und den sieben Patient\*innen mit stabilem Krankheitsverlauf (Mittelwert: 7,6 Jahre, Spannweite: 4,6 – 9,8). Das Alter bei HSZT lag in der stabilen Outcome-Gruppe ( $n = 7$ ) im Median bei 12 Jahren (Spannweite: 4,9 – 18,2) und in der rasch progredienten Gruppe bei 10,9 Jahren (Spannweite: 5,2 – 13,9), wobei auch hier keine statistische Signifikanz beobachtet werden konnte.

*Tabelle 5: Prädiktive Werte für eine Krankheitsverschlechterung nach HSZT. All p-Werte wurden deskriptiv gewertet.*

<b>GMFM-88 &lt; 100%</b>	<b>p = 0.003</b>
<b>GMFC.MLD &gt; 0</b>	<b>p = 0.013</b>
IQ < 85	p = 0.079
<b>MLD MR Severity Score &gt; 17</b>	<b>p = 0.003</b>
NCV < 40 m/s	p = 0.198
Alter bei Onset	p = 0.802
Alter bei HSZT	p = 0.326
Erste Symptome (motorisch vs. kognitiv)	p = 0.261

### 3.3 Unterschiede im Krankheitsverlauf zwischen transplantierten und nicht-transplantierten Patient\*innen (Abbildung 6)

Alle Patient\*innen, die sich in ihrer Symptomatik verschlechterten, waren zum Zeitpunkt der HSZT bereits in ihrer grobmotorischen Funktion eingeschränkt und hatten das Level 1 der GMFC.MLD erreicht. Die Zeit, die zwischen dem Eintritt in Level 1 und der Verschlechterung auf Level 2 der GMFC.MLD verstrich, unterschied sich signifikant zwischen transplantierten und nicht-transplantierten Patient\*innen ( $p = 0,02$ ). Ein Jahr nach Eintritt in Level 1 der GMFC.MLD hatten bereits alle transplantierten Patient\*innen das Level 2 erreicht. In der nicht-transplantierten Gruppe betrug der Anteil nur 25 %. Fünf der 35 nicht-transplantierten Patient\*innen waren am Ende des Beobachtungszeitraums immer noch auf Level 1 der GMFC.MLD.

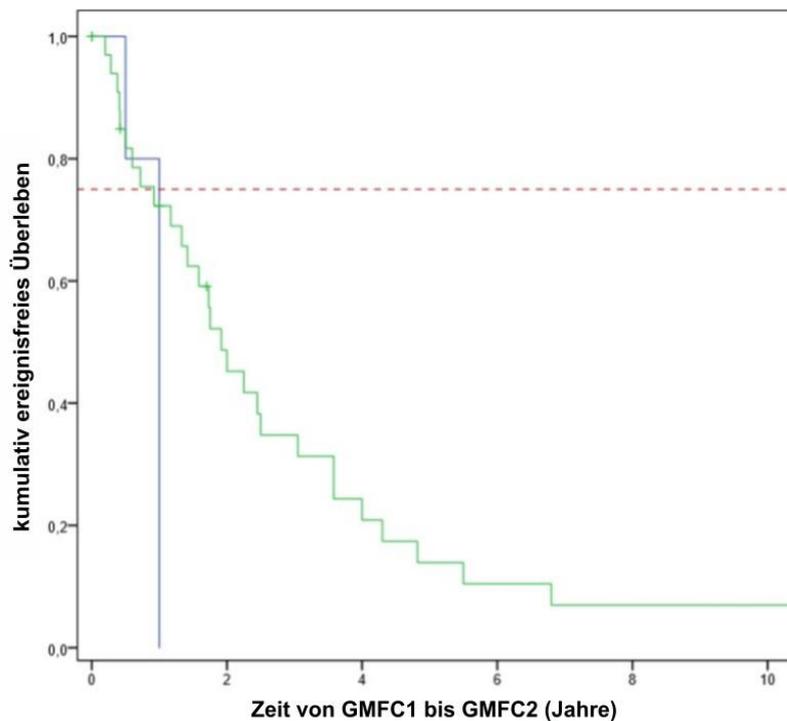


Abbildung 6: Zeit zwischen GMFC.MLD1 und GMFC.MLD2. Transplantierte Patient\*innen mit rasch progredientem Krankheitsverlauf (blau) werden mit nicht-transplantierten Patient\*innen (grün) verglichen, um den Unterschied in der Krankheitsdynamik zu veranschaulichen.

## **4 Diskussion**

### **4.1 Beobachtung der frühen Krankheitsverläufe nach HSZT**

Die HSZT gilt als Goldstandard und meist angewandte Therapieoption bei Kindern und Jugendlichen mit der juvenilen Form der MLD. In den systematisch ausgewerteten Langzeitverläufen (44,52,56–59,73–75) wurden jedoch immer wieder große Unterschiede im klinischen Outcome der Patient\*innen deutlich. So blieben manche Patient\*innen nach HSZT klinisch stabil oder verbesserten sich sogar. Andere jedoch verschlechterten sich klinisch massiv. Um den Nutzen der HSZT besser einschätzen zu können und sie jenen Patient\*innen zugänglich zu machen, die tatsächlich davon profitieren können, ist es wichtig, die Zeit zu verstehen, in der die klinische Verschlechterung der Symptomatik auftritt. Aus den Ergebnissen vorheriger Studien ist anzunehmen, dass es sich hierbei um die ersten 24 Monate nach HSZT handelt (44,48–52). Diese Zeit wurde bereits systematisch für Veränderung in der MRT untersucht (49,51,60,63,76,77), jedoch noch nicht in Bezug auf klinische Parameter. Ziel dieser Arbeit war, die ersten beiden Jahre nach HSZT in Bezug auf klinische Parameter und damit auf den tatsächlich spürbaren Effekt auf die Patient\*innen genauer zu untersuchen, um die Dynamik im Krankheitsverlauf besser zu verstehen. Zusätzlich wurden elektrophysiologische und MRT-Parameter erhoben und der klinische Zustand der Patient\*innen 24 Monate nach HSZT mit jenem zum Ende des Beobachtungszeitraums verglichen.

#### **4.1.1 Verlauf klinischer Parameter und deren Bedeutung**

Wir konnten beobachten, dass eine Verschlechterung der Symptomatik in Bezug auf die motorische und kognitive Funktion, wenn überhaupt, nur in den ersten 12 bis 18 Monaten nach HSZT auftrat. Jene Patient\*innen, die in diesem Zeitraum klinisch stabil blieben, blieben dies auch über den gesamten Beobachtungszeitraum. Daraus lässt sich zum einen schließen, dass der frühe klinische Verlauf den tatsächlichen Therapieerfolg bestimmt, aber auch, dass nicht von einer klinischen Verschlechterung der Symptomatik nach diesem Zeitraum ausgegangen werden muss. Gerade letzteres stellt eine wichtige Information für die Betreuung und Beratung der Kinder und Jugendlichen sowie deren Familienmitglieder dar. Darüber hinaus ließ sich beobachten, dass motorische und

kognitive Verschlechterungen miteinander korrelieren. So zeigte sich eine klinische Verschlechterung immer im motorischen als auch im kognitiven Bereich.

#### **4.1.2 Effekte auf die neurophysiologische Funktion**

In Bezug auf die neurophysiologische Funktion, die mit Hilfe der NLG bestimmt wurde, konnten keine Veränderungen in den ersten beiden Jahren beobachtet werden. Es zeigte sich keine Korrelation zwischen pathologischen Werten in der NLG und der erhobenen motorischen Funktion im Verlauf oder dem tatsächlichen Outcome. So konnten Patient\*innen mit pathologischer NLG durchaus eine gute motorische Funktion aufweisen und umgekehrt. Auch zeigte sich eine Verschlechterung in der motorischen Funktion nicht in den erhobenen NLG-Werten. Dies kann am ehesten als Indiz dafür gesehen werden, dass die frühe motorische Verschlechterung primär auf Schäden des ZNS und weniger auf die des Peripheren Nervensystems (PNS) zurückzuführen sind. Auch konnte bereits nachgewiesen werden, dass sich der Effekt der HSZT auf das ZNS nicht im PNS bemerkbar macht. Während sich im Gehirn durchaus positive Effekte nachweisen lassen, zeigen sich im PNS eher keine Effekte oder sogar eine Funktionsverschlechterung (51,57,58,60,73,78). Darüber hinaus gibt es Hinweise darauf, dass die periphere Neuropathie besser auf die Gentherapie aufgrund höherer erreichter ARSA-Werte reagiert (78).

#### **4.1.3 Effekte auf die erhobene MRT-Bildgebung**

Bei Patient\*innen, die sich in den ersten 24 Monaten klinisch verschlechterten, konnte bereits zu Beginn der HSZT ein höherer MLD MR Severity Score festgestellt werden. Darüber hinaus zeigte sich bei diesen Patient\*innen auch ein größerer Punkteanstieg über die Zeit, als bei Patient\*innen der stabilen Gruppe. Die Korrelation zwischen motorischer Verschlechterung und der Zunahme der Hirnläsionen lässt sich als weiteres Indiz dafür deuten, dass die motorische Verschlechterung auf die fortschreitenden Veränderungen im ZNS zurückzuführen sind.

## **4.2 Prädiktive Werte für einen stabilen Krankheitsverlauf**

Bisher wurde in dieser Arbeit retrospektiv beschrieben, welche Kinder von einer HSZT profitieren konnten. Für den klinischen Alltag steht natürlich die vorherige Abschätzbarkeit des Krankheitsverlaufes nach HSZT im Vordergrund. Aus diesem

Grund versuchten wir prädiktive Werte für einen stabilen, nicht progredienten Krankheitsverlauf zu identifizieren. Was den Zustand der Kinder zum Zeitpunkt der HSZT anbelangt, so wiesen die Patient\*innen, die während des gesamten Beobachtungszeitraums stabil blieben, keine grobmotorischen Beeinträchtigungen (GMFC.MLD = 0, GMFM-88 = 100 %) und nur wenige MRT-Veränderungen (MR-Schweregrad-Score  $\leq 17$ ) bei Studienbeginn auf. Dies unterstreicht die Bedeutung einer HSZT in einem sehr frühen Stadium der Erkrankung und bestätigt frühere Empfehlungen für eine HSZT bei präsymptomatischen und leicht symptomatischen Kindern mit juveniler MLD (44,52,54,55,57,58).

Das Alter des Krankheitsbeginns (oder früh- bzw. spätjugendlicher Krankheitsbeginn) und das Alter bei der HSZT waren nicht prädiktiv für das frühe Ergebnis nach der HSZT. Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass der klinische (und MRT-) Status der Patient\*innen zum Zeitpunkt der HSZT wichtiger sein könnte als das Alter bei Krankheitsbeginn. Dies steht im Gegensatz zu einer früheren Studie, die zeigt, dass ein jüngeres Alter bei Krankheitsbeginn einen negativen Einfluss auf das Ergebnis haben könnte, was auf das potenziell schnellere Fortschreiten der Erkrankung bei frühjugendlichen Patient\*innen hinweist (52). Jedoch wurde in dieser Studie ein Alter jünger als 4 Jahre als bedeutend für den Krankheitsverlauf nach HSZT beschrieben. In unserer Studie waren jedoch alle Kinder zum Zeitpunkt des Beginns der Erkrankung älter als 4 Jahre. Das Konditionierungsschema vor der HSZT änderte sich aufgrund veränderter Leitlinien über den Behandlungszeitraum hinweg, weshalb nicht alle Patient\*innen die gleichen Medikamente erhalten konnten. Jedoch hatten die unterschiedlichen Konditionierungsschemata keinen eindeutigen Einfluss auf das Ergebnis nach HSZT. Es ist bekannt, dass ein Konditionierungsschema, das in der Lage ist, eine ablative Wirkung auf funktionell definierte, im ZNS ansässige myeloische Vorläuferzellen auszuüben, die Migration der Spenderzellen in das Gehirn und die dortige Differenzierung zu Mikrogliazellen begünstigt. Dieser Mechanismus konnte in Mäusen für Busulfan (79,80) und für ein nicht-myeloablatives Konditionierungsverfahren mit fokaler Kopfbestrahlung und Rapamycin zur Immunsuppression nachgewiesen werden (81). Diese Erkenntnisse würden die Vermutung nahelegen, dass Konditionierungsschemata, die auf Busulfan aufgebaut sind, ein besseres therapeutisches Outcome und einen Vorteil gegenüber

Konditionierungsschemata mit Treosulfan mit sich bringen. Hinweise hierauf konnten in der vorliegenden Studie nicht gefunden werden.

Es wird klar, dass größere (multizentrische) Studien erforderlich sind, um die Wirkung des Konditionierungsschemas für MLD zu untersuchen und dabei die positiven Auswirkungen auf die Transplantation/Ergebnisse gegen die verringerte Neurotoxizität abzuwägen (55). Darüber hinaus könnte dies auch dazu beitragen, offene Fragen besser zu klären und z. B. bei der Entwicklung von Empfehlungen für Ein- und Ausschlusskriterien für eine HSZT bei MLD mitzuwirken.

#### **4.2.1 Einordnung der gefundenen prädiktiven Faktoren in die Literatur**

Die Literatur betrachtend, beziehen sich alle Empfehlungen für eine HSZT bei juveniler MLD darauf, dass die Patient\*innen entweder präsymptomatisch oder in einem sehr frühen Krankheitsstadium sein sollten, was sich mit den vorliegenden Ergebnissen deckt. Sie unterscheiden sich jedoch in der Spezifizierung dieses Zustandes. Peters et al. verweisen auf eine gute neuropsychologische Funktion und Unabhängigkeit bei Aktivitäten des täglichen Lebens (44), Musolino et al. sprechen von "minimal symptomatischen" Patient\*innen (55). Van Rappard et al. empfehlen die Fähigkeit, ohne Unterstützung zu gehen und einen IQ von über 75 (59). Van der Broek et al. fügen gut gematchte Transplantate, das Fehlen einer Hirnatrophie und einen normalen Leistungsscore als prädiktive Parameter für ein besseres Gesamtüberleben hinzu (57). Hinsichtlich der Hirnanomalien stellen Groeschel et al. fest, dass ein MLD MR Severity Score von unter 17 mit einem besseren Ergebnis assoziiert ist (52), Martin et al. empfehlen einen Wert unter 5 (ohne Berücksichtigung der Atrophie) (58) und van Rappard et al. einen Wert unter 15 (59) in ihren jeweiligen Kohorten. Zusammenhänge zwischen dem MLD MR Severity Score und klinischen Parametern konnten bereits nachgewiesen werden. So korreliert der MLD MR Severity Score positiv mit dem Level der GMFC.MLD (41), sowie negativ mit dem IQ (82).

Eine Korrelation zwischen dem Intervall vom Auftreten der ersten Symptome und der HSZT und dem klinischen Ergebnis wurde ebenfalls als relevanter Faktor vorgeschlagen (49,57,58). Einige der in dieser Arbeit untersuchten Patient\*innen waren bereits im Hinblick auf das Langzeitergebnis nach HSZT untersucht worden (52). Prädiktive Faktoren für ein gutes klinisches Ergebnis waren hier ein GMFC.MLD von 0 oder 1, ein IQ von mindestens 85, ein Alter bei Beginn der

Erkrankung von mehr als 4 Jahren sowie ein MLD MR-Severity-Score von weniger als 17. Interessanterweise war der IQ zum Zeitpunkt der HSZT in der aktuellen Studie mit einer kleineren Kohorte nicht prädiktiv für das Langzeitergebnis; im Hinblick auf das Kurzzeitergebnis korrelierte jedoch die grobmotorische Verschlechterung mit der kognitiven Verschlechterung. Demnach verschlechterten sich bei Kindern mit stabiler motorischer Funktion die kognitiven Funktionen nicht, unabhängig von der Höhe ihres IQs vor HSZT. Nach Abschluss dieser Untersuchung konnte die Tübinger Arbeitsgruppe zeigen, dass die Erstsymptomatik bei Krankheitsbeginn ganz wesentlich die Dynamik der Krankheitsprogredienz bestimmt. Jene ist wesentlich langsamer bei Patient\*innen, die keine grobmotorische Erstsymptomatik zeigen (15). Dies unterstützt unsere Beobachtung, dass ein GMFC.MLD Level 0 (demnach keine grobmotorischen Symptome bei Krankheitsbeginn) mit einer besseren Prognose und einem langsameren Fortschreiten der Erkrankung einhergeht.

### **4.3 Möglicher Einfluss der HSZT auf den Krankheitsverlauf**

Bei der Auswertung der klinischen Verläufe war in der Gruppe der Patient\*innen mit progredientem Krankheitsverlauf vor allem die sehr rasche Verschlechterung der motorischen und kognitiven Funktion nach Transplantation auffällig und es drängte sich die Frage auf, ob die Patient\*innen evtl. ohne eine Transplantation länger hätten stabil bleiben können. Eine klinische Verschlechterung direkt nach HSZT wurde bereits beschrieben (50,51,60,83). Bekannt ist ebenfalls, dass der Prozess der Migration der HSZ in das Gehirn, sowie deren Differenzierung zu Mikrogliazellen, eine gewisse Zeit in Anspruch nimmt. Bisher wurde angenommen, dass die Zeit bis zur klinischen Stabilisierung, die meist mit 6-12 Monaten (83) oder 12-24 Monaten (44,45,48,49,84) beschrieben wurde, dieser Zeit entspricht. Die Zeit bis zum Eintreten einer therapeutischen Wirkung erklärt jedoch nicht die rasche klinische Verschlechterung, unter der die Patient\*innen litten und auch nicht, ob der Krankheitsverlauf ohne eine HSZT anders verlaufen wäre.

#### **4.3.1 Vergleich der Krankheitsverläufe transplanteder Kinder mit progredientem Verlauf und nicht-transplanteder Kinder**

Um die Frage zu beantworten, ob es überhaupt einen Unterschied im Krankheitsverlauf der transplantierten Patient\*innen mit progredientem Verlauf und nicht-transplantierten Patient\*innen gibt, wurde die Zeit zwischen dem Eintritt in

GMFC.MLD Level 1 (freies Gehen mit Auffälligkeiten) und GMFC.MLD Level 2 (Verlust des freien Gehens) zwischen den beiden Gruppen verglichen. Die transplantierten Patient\*innen verschlechterten sich motorisch signifikant schneller als die nicht transplantierten. Erklärungsansätze können zum einen der natürliche Krankheitsverlauf und die fehlende Wirksamkeit der HSZT in den Monaten nach Transplantation sein, jedoch auch eine mögliche Verschlechterung durch den medizinischen Eingriff der HSZT selbst. Kehrer et al. (31) beschreiben im natürlichen Krankheitsverlauf der juvenilen MLD eine Wahrscheinlichkeit von 13% über 20 Jahre hinweg auf GMFC.MLD Level 0 oder 1 zu bleiben und damit einen stabilen Krankheitsverlauf zu entwickeln. Bei Eintritt in GMFC.MLD Level 1 liegt die Wahrscheinlichkeit, länger als ein Jahr auf diesem Level zu bleiben und sich damit nicht zu verschlechtern, bei 84%, die Wahrscheinlichkeit länger als 24 Monate auf Level 1 zu bleiben bei 51%. Das Erreichen des GMFC.MLD Levels 2 und damit der Verlust des freien Gehens, markiert den Eintritt in die schnelle Krankheitsprogredienz und geht mit einer Wahrscheinlichkeit von 60% einher, sich innerhalb eines Jahres auf GMFC.MLD Level 5 (keine Fortbewegung möglich bei erhaltender Kopfkontrolle) zu verschlechtern. Demnach ist eine schnelle Krankheitsprogredienz auch im natürlichen Verlauf nichts Ungewöhnliches. Kehrer et al. beschreibt jedoch ein Fenster der Gelegenheit für eine HSZT auch bei bereits vorhandenen motorischen Auffälligkeiten (GMFC.MLD Level 1), da die durchschnittliche Zeit von Eintritt in Level 1 bis Eintritt in Level 2 bei 27 Monaten liegt bei gleichzeitig großen interindividuellen Unterschieden (31). Alle fünf transplantierten Patient\*innen unserer Studie mit progredientem Verlauf erreichten jedoch bereits innerhalb eines Jahres nach HSZT das GMFC.MLD Level 2, woraufhin eine schnelle Progredienz folgte. Dies scheint nahezuzeigen, dass die HSZT die bevorstehende Krankheitsprogredienz bei diesen Patient\*innen beschleunigte.

#### **4.3.2 Ungenauigkeiten bei klinischen Parametern**

Bei Patient\*innen, die zuerst mit motorischen Veränderungen auffällig werden, kann der Beginn der motorischen Symptomatik lediglich retrospektiv durch die Anamnese erhoben und nicht objektiv beobachtet werden. Jene hängt jedoch zum einen von der Aufmerksamkeit und Beobachtungsfähigkeit der betreuenden Personen, zum anderen aber auch von deren Beschreibungen ab. Erst kürzlich führten Eichler et

al. (85) eine Studie zum Sprachgebrauch von betreuenden Personen von an MLD erkrankten Kindern und Jugendlichen durch. Darin wurde zum einen deutlich, dass von ersten Auffälligkeiten bis zur tatsächlichen Diagnosestellung im Durchschnitt 13,7 Monate vergehen, dass aber auch gerade die großen Unterschiede der Erstsymptome, häufiges Fehlen eines primären Symptoms und eher Symptomkonstellationen, als auch die Schwierigkeit, jene ohne medizinische Fachkenntnisse so zu beschreiben, dass sie von Ärzt\*innen und Pfleger\*innen als Hinweise auf eine MLD erkannt werden können, Probleme in der Diagnosestellung verursachen. Aufgrund der genannten Problematik darf eine zeitlich fehlerhafte Zuteilung zu GMFC.MLD Level 1 aus der Anamnese und eine dadurch eingeschränkte Aussagekraft über die Dauer des Verbleibens auf den unterschiedlichen GMFC.MLD Leveln nicht vernachlässigt werden.

### **4.3.3 Mögliche Ursachen für rasche Krankheitsprogredienz nach HSZT**

#### **4.3.3.1 Einfluss medikamentöser Neurotoxizität auf die motorische Funktion**

Tatsächlich relevant für die Therapieindikation wäre allerdings eine klinische Verschlechterung durch die HSZT selbst. Neurologische Komplikationen als Folge einer HSZT sind allgemein bekannt. Es wird von einer Häufigkeit zwischen 3 % und 59 % (86–91), bei stark divergierendem Schweregrad (von leichten vorübergehenden Störungen bis hin zu schweren klinischen Erkrankungen) (92) ausgegangen. Klar ist jedoch, dass in 90% der Autopsien von Patient\*innen, die sich einer HSZT unterzogen hatten, neuropathologische Befunde auffällig waren (87). Es gibt jedoch nur wenige Studien, die sich auf den pädiatrischen Bereich beziehen. Weber et al. (93) beschreibt neurologische Symptome bei 24% der Patient\*innen. Zwei Gruppen konnten unterschieden werden, wobei die Patient\*innen der erste Gruppe lediglich milde neurologische Symptome aufwiesen, die sich innerhalb der ersten 24h zurückbildeten, die Patient\*innen der zweiten Gruppe jedoch unter schweren neurologischen Komplikationen litten und sich im Krankheitsverlauf progredient verschlechterten. Als häufigste neurologische Komplikationen wurden Infektionen (v.a. zerebrale Toxoplasmose und Aspergillose), medikamentöse Toxizität, zerebrovaskuläre Ereignisse und ein Rezidiv der Grunderkrankung im ZNS beschrieben. Infektionserkrankungen oder zerebrovaskuläre Ereignisse wurden in den Nachsorgeuntersuchungen unserer Kohorte nicht beobachtet, jedoch ist eine medikamentöse Toxizität nicht

ausgeschlossen. Busulfan wird mit einer Neurotoxizität von 10% beschrieben und kann durch seine Fähigkeit, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden, zu hohen, toxischen Konzentrationen im Liquor cerebrospinalis führen (94). Methotrexan, Fludarabin und Tacrolimus sind bekannt für geringfügige und vorübergehende neurotoxische Ereignisse wie Kopfschmerzen, Schwindel oder Krampfanfälle. Von den angewandten Medikamenten hat jedoch Cyclosporin A (CsA) das höchste neurotoxische Potential, wobei eindeutige pathophysiologische Erkenntnisse noch ausstehend sind (95). Es gibt Hinweise darauf, dass CsA zu neuronaler Apoptose und dem Absterben von Oligodendrozyten führt (96). Auch wurden ischämische Störungen durch Endothelschäden und Interaktion mit adrenergen Rezeptoren an Hirngefäßen berichtet (97). Weitere Faktoren für eine vermehrte Neurotoxizität sind eine mögliche Erhöhung des Blutdrucks (98) sowie ein veränderter Lipidstoffwechsel (99). Darüber hinaus wurden Verschiebungen im Elektrolytgleichgewicht (Hypomagnesiämie, Hypo-/Hypernatriämie), ausgelöst durch den Einsatz von CsA, mit neurologischen Komplikationen in Verbindung gebracht (100,101). Klinisch wurden bei Erwachsenen v.a. posturaler Tremor und palmare Parästhesien, generalisierte tonisch-klonische Anfälle, sowie das Syndrom der posterior reversiblen Enzephalopathie (86), bei Kindern jedoch auch motorische Anzeichen beschrieben (102).

Ähnliche Beobachtungen ergab die Analyse der Auswirkungen der HSZT auf die periphere NLG. Nach anfänglicher Verbesserung nach HSZT kam es bei einem Teil der Patient\*innen zu einer progredienten Verschlechterung (103,104). Siddiqi et al. stellen sich ebenfalls die Frage nach der Kausalität. Neben den Auswirkungen der immunmodulatorischen Medikamente wird auch die Möglichkeit einer mangelhaften Remyelinisierung durch veränderte Schwann-Zellen angesprochen. Diese Ergebnisse beziehen sich wahrscheinlich nicht nur auf den peripheren Nerv, sondern können auch auf das ZNS zutreffen (55). Zukünftig könnte durch eine Untersuchung des peripher neu gebildeten Myelins auch die Qualität der Remyelinisierung im Gehirn besser beurteilt werden können.

Eindeutige neurologische Symptome, die auf eine medikamentöse Toxizität hinweisen, fehlen in unserer Kohorte. Dies kann als Hinweis darauf interpretiert werden, dass die motorische Verschlechterung nicht auf eine medikamentöse Toxizität zurückzuführen ist. Jedoch wird der Einfluss der Chemotherapeutika auf

das neuronale System deutlich und abweichende Symptome dieser Schädigung bei Kindern, insbesondere bei bereits neurologisch erkrankten Kindern, können nicht ausgeschlossen werden, weshalb die Entwicklung weniger neurotoxischer Therapiemethoden vorangetrieben werden sollte.

#### 4.3.3.2 Einfluss medikamentöser Neurotoxizität auf die kognitive Funktion

Wie bereits beschrieben, ging eine rasche motorische Verschlechterung in unserer Kohorte auch mit einer raschen kognitiven Verschlechterung einher. Kognitive Defizite treten bei 20-40% der pädiatrischen Patient\*innen auf, die mittels einer HSZT behandelt werden (105–114), wobei das erste Jahr nach HSZT als kritisches Zeitfenster für die Entwicklung neurokognitiver Defizite beschrieben wird (109,113). In Bezug auf messbare Veränderungen im IQ wurden sowohl nur wenige oder keine negativen Einflüsse (110,115–117) als auch gravierende Verschlechterungen (108,113,118) beschrieben. In Bezug auf die medikamentöse Neurotoxizität wurde v.a. das zur GvHD-Prophylaxe eingesetzte Methotrexan diskutiert. Laut Studien wirkt sich der Einsatz negativ auf das Arbeitsgedächtnis sowie die exekutiven Funktionen aus (118–121).

Neben medikamentöser Toxizität könnte auch die sozialpsychische Situation mit langer Hospitalisation, sozialer Isolation und, aufgrund der Erkrankung und Behandlung, längere Zeiten des Schulabsentismus zu einer Verschlechterung der neurokognitiven Funktion beitragen (122–124).

#### 4.3.3.3 Probleme bei der Ergebnisübertragung von hämatologisch auf neurologisch erkrankte Kinder

Die oben diskutierten Studien wurden v.a. bei hämatologisch erkrankten Patient\*innen durchgeführt. Daraus ergibt sich der Vorteil, dass die neurokognitiven Auswirkungen sehr wahrscheinlich auf die Therapie bezogen werden können, da im natürlichen Krankheitsverlauf keine Abnahme der kognitiven Leistungsfähigkeit zu erwarten ist. Allerdings gestaltet sich die Übertragung aufgrund unterschiedlicher hirmmorphologischer Ausgangswerte natürlich schwierig. Bekannt ist, dass die Wahrscheinlichkeit nach HSZT unter Beeinträchtigungen neurokognitiver Funktionen zu leiden, höher ist, wenn vor der HSZT bereits neurologische Probleme bestanden haben (112,113,125). Jedoch ist aufgrund des häufigen Einsatzes von Ganzkörperbestrahlungen und Hirnbestrahlungen bei hämato-onkologisch kranken

Patient\*innen, die als Risikofaktoren für neurokognitive Defizite angesehen werden (117,126), eine retrospektive Unterscheidung zwischen den Auswirkungen der Konditionierung und der HSZT, wie sie bei Patient\*innen mit MLD zu Anwendung kommt, und der Bestrahlung ebenfalls nur schwer möglich. Um die Auswirkungen der HSZT auf die neurokognitive Funktion bei neurologisch erkrankten Kindern einschätzen zu können, werden genau zugeschnittene Studien benötigt.

#### 4.3.3.4 Entzündliche Prozesse der HSZT als verstärkendes Element

Für das Fortschreiten der MLD spielen auch entzündliche Faktoren eine Rolle. Bei der X-chromosomale Adrenoleukosystrophie (X-ALD) konnte gezeigt werden, dass Monozyten/Makrophagen der metabolisch am stärksten betroffene periphere Immunzelltyp sind (127) und dass die Umschaltung auf einen entzündungshemmenden M2-Phänotyp nach Aktivierung beeinträchtigt ist (128). Es wird vermutet, dass dieser Funktionsdefekt zur anhaltenden Entzündung bei zerebralen Läsionen beiträgt. Darüber hinaus konnte erst kürzlich gezeigt werden, dass die Progredienz der MLD stark von der Schädigung der Mikrogliazellen beeinflusst wird, die dem Zerfall der Oligodendrozyten, die aufgrund ihres hohen Lipidgehalts als Schlüssel zur Pathophysiologie der Leukodystrophien gelten, und der Myelin-Degeneration vorausgeht (129). Die bei der HSZT induzierte Entzündungsreaktion könnte die oben beschriebenen Mechanismen noch verstärken.

#### 4.3.3.5 Einfluss der motorischen Funktion zum Zeitpunkt der HSZT

Unsere Ergebnisse zeigen, dass sich transplantierte Patient\*innen, bei denen ein progredienter Krankheitsverlauf festgestellt wurde, in einem wichtigen Aspekt deutlich von Patient\*innen unterscheiden, die stabil bleiben: ihre abnorme Grobmotorik zum Zeitpunkt der HSZT - selbst bei lediglich leichter Beeinträchtigung. Dies bedeutet, dass Kinder, die zum Zeitpunkt der HSZT bereits an einer Neuropathologie leiden, die Störungen in ihrer Grobmotorik verursacht, wahrscheinlich anfälliger für transplantationsbedingten (entzündlichen/toxischen) Stress sind, was das Fortschreiten der Krankheit beschleunigen könnte.

## **4.4 Ausblick auf neue Therapieansätze und Aufnahme in das Neugeborenencreening**

Die möglichst frühe HSZT im Krankheitsverlauf, sowohl für die HSZT als auch für die lentivirale Gentherapie mit Libmeldy, und damit einhergehend eine möglichst frühe Diagnosestellung der MLD, legt natürlich die dringende Frage nach der Möglichkeit der Aufnahme der MLD und anderer Leukodystrophien in das Neugeborenen-Screening nahe. 1968 legten Wilson und Jungner die Prinzipien für Erkrankungen, bei denen sich ein Neugeborenencreening anbietet, fest. Jene beinhalten die nachweisbare Schwere der Erkrankung, das Wissen über den natürlichen Verlauf, einen signifikanten Nutzen für eine frühe neonatale Behandlung sowie ein geeignetes Testinstrument (130). Die ersten beiden Punkte können als gegeben angesehen werden. Obgleich die HSZT als etablierteste Therapiemethode gilt, weist sie doch, wie bereits dargestellt, Risiken auf und steht vor allem Jugendlichen im a- oder frühsymptomatischen Stadium bereit. Deshalb gab es in den letzten Jahren immer wieder Bestrebungen, andere Therapiemethoden zu etablieren, welche an dieser Stelle kurz vorgestellt werden sollen.

### **4.4.1 Gentherapie**

#### **4.4.1.1 Lentivirale Gentherapie**

Bei der lentiviralen Gentherapie werden autologe Stammzellen, die mit einem lentiviralen Vektor transduziert wurden, der eine gesunde Kopie des ARSA-Gens enthält, verwendet, wodurch eine supranormale Produktion (500-1000%) von ARSA ermöglicht wird. Wie bereits beschrieben, lässt sich die Remyelinisierung am ehesten auf die neuroprotektive und entzündungshemmende Wirkung der Spendermakrophagen, sowie die Phagozytose von Sulfatiden zurückführen und nicht auf das Prinzip der Kreuzkorrektur (46). Dies geschieht jedoch nur im ZNS und nicht im PNS (78). Es wird jedoch angenommen, dass durch die höhere ARSA-Enzymkonzentration bei der lentiviralen Gentherapie eine höhere Effektivität beim Durchdringen der Blut-Nerven-Schranke gegeben ist und so das PNS erreicht werden kann, was an Mausmodellen gezeigt werden konnte (131–133). 2016 wurde dies auch an Menschen durchgeführt. Auch hier zeigten sich neben den positiven Effekten auf das ZNS, der Einfluss auf das PNS und darüber hinaus die Wirksamkeit bei früh-infantiler MLD (134). 2022 wurden die Langzeitergebnisse veröffentlicht, die

außer der Ausbildung von ARSA-Antikörpern, die sich jedoch nicht klinisch ausgewirkt hatten, die positiven Ergebnisse bestätigten (135). Dies führte zur Zulassung von Atidarsagen autotemcel, Libmeldy® für die spät-infantile und früh-juvenile (30 Monate bis sechs Jahre) Verlaufsformen im Frühstadium der Erkrankung. Bei der lentiviralen Gentherapie könnte jedoch die zufällige und nicht zielgerichtete Integration des ARSA-Transgens das Risiko einer Insertionsmutagenese bergen, weshalb eine mutationsdiagnostische Gentherapie mit hämatopoetischen Zellen und Vorläuferzellen unter Verwendung von CRISPR-Cas9 und einer AAV6-Reparaturvorlage als Behandlungsoption für die MLD untersucht wurde (136). In hämatopoetischen Stamm- und Vorläuferzellen von zwei MLD-Patient\*innen wurde eine Wiederherstellung der ARSA-Enzymaktivität nachgewiesen, die mit der von gesunden Erwachsenen vergleichbar ist (136).

#### 4.4.1.2 Adeno-assoziierte Gentherapie

Ein weiteres Verfahren stellt die Adeno-assoziierte Virus-vermittelte ZNS-Gentherapie dar. Hierbei wird ein viraler Vektor, der für das ARSA-Gen kodiert, intraparenchymatös, intrazerebroventrikulär und intrazisternal direkt in das Gehirn verabreicht (137). Vorteile ergeben sich aus der dauerhaften lokalen Expression bei einmaliger Verabreichung. Darüber hinaus reichen lediglich 5-10% der normalen Enzymaktivität aus, um Krankheitssymptome zu verringern und das ARSA-Protein kann in benachbarte Zellen endozytiert werden (4). Es wird davon ausgegangen, dass diese Form der Gentherapie zur schnelleren Expression von ARSA im Gehirn führt, als es bei der lentiviralen Gentherapie der Fall ist (138). Trotz dieser vielversprechender Ergebnisse an Mausmodellen musste eine Phase 1/2 Studie aufgrund fehlender Wirksamkeit abgebrochen werden (137,139).

#### 4.4.2 Enzymersatztherapie (ERT)

Ein weiterer Weg stellt, zur Umgehung der Blut-Hirn-Schranke, die intrathekale Verabreichung des Enzyms dar. Es konnte nachgewiesen werden, dass die so verabreichte humane ARSA (hARSA) vor allem von Mikrogliazellen und weniger von Oligodendrozyten und Astrozyten aufgenommen wird, weshalb die therapeutische Wirkung, wie bei der HSZT (46,140), vor allem auf den Abbau von extrazellulären Sulfatiden und/oder auf die entzündungshemmende Komponente

zurückzuführen ist (140). Im Mausmodell konnte bei intrathekaler Verabreichung ein Rückgang der Sulfatidablagerungen um 51-56% festgestellt werden. Als problematisch gilt die relativ kurze Halbwertszeit (HWZ) der ARSA von nur 10 Minuten (141). Erst kürzlich konnten Yaghoofam et al. durch die Mutation eines Kathepsin-Spaltungs-Hotspot und weiteren Modifizierungen ein trimodal modifiziertes Neoenzym namens SuPerTurbo-ARSA herstellen (142). Im Vergleich zur Wildtyp-hARSA konnten die HWZ, die Aktivität und die Mannose-6Phosphat-unabhängige Aufnahme um mehr als das 7-fache, etwa das 3-fache bzw. mehr als das 100-fache erhöht werden. Damit ist die SuPerTurbo-ARSA im Vergleich zur Wildtyp-hARSA 8- bzw. 12-mal effizienter bei der Verringerung der Sulfatidspeicherung in Gehirn und Rückenmark. In beiden Geweben wurde die Speicherung um ~60 % reduziert, was in etwa einer Verdoppelung der zuvor mit einer 65-fach höheren kumulativen Dosis von Wildtyp-hARSA erreichten Clearance entspricht (142).

Im Rahmen der ERT wurde auch die intravenöse Verabreichung von hARSA an Mäusen getestet, welche ebenfalls zur Verbesserung der ZNS-Pathologien, sowie der Symptomatik der Motorik und des Verhaltens führte (143,144). Jenes Verfahren wurde auch bereits an Patient\*innen getestet, zeigte jedoch keine Hinweise auf eine Wirksamkeit bei der Verhinderung motorischer und kognitiver Verschlechterungen, was darauf hindeutet, dass rekombinante humane ARSA (rhARSA) die Blut-Hirn-Schranke möglicherweise nicht in therapeutischen Mengen überwindet (145). Ein intrathekales Verfahren wurde ebenfalls an Kindern mit MLD erprobt. Obwohl sich die motorische Funktion im Laufe der Zeit generell verschlechterte, zeigte sich bei den Patient\*innen, die die höchste Dosierung erhielten, eine Tendenz zu einer weniger ausgeprägten Verschlechterung. Darüber hinaus läuft derzeit eine Phase-2b-Studie mit rhARSA in einer höheren Dosierung (146).

#### **4.4.3 Immunmodulation**

Ein weiterer Forschungsbereich stellt die Immunmodulation dar. Es wird vermutet, dass die Anhäufung von Sulfatiden die Freisetzung von entzündlichen Zytokinen aus Makrophagen induziert (6,147). Daher ist es wahrscheinlich, dass sowohl die Sulfatidakkumulation als auch die Neuroinflammation eine Rolle im Demyelinisierungsprozess bei MLD spielen, was zu einem Teufelskreis führt, wie er auch bei mehreren anderen metabolischen neurodegenerativen Erkrankungen

beobachtet werden kann (78). Es konnte gezeigt werden, dass die Behandlung des demyelinisierenden MLD-Mausmodells mit dem nichtsteroidalen entzündungshemmenden Medikament Simvastatin die Neuroinflammation reduziert, die Schwimmleistung und den ataktischen Gang verbessert und die Demyelinisierung des Rückenmarks verzögert (148). Daten aus Mausmodellen anderer LSK zeigten die positive Wirkung einer Behandlung mit den nichtsteroidalen Entzündungshemmern Aspirin, Ibuprofen und Indomethacin, die das Fortschreiten der Erkrankung verlangsamten (149–151).

Aktuell rückt der Poly(ADP-Ribose)-Polymerase 1 (PARP-1) – Inhibitor Olaparib, der bisher für Krebserkrankungen zugelassen ist, in den Fokus der Forschung (9). Die PARP-1 ist an einer Vielzahl von zellulären Prozessen beteiligt, darunter DNA-Reparatur, Transkriptionsregulierung und Mitochondrienfunktion (152). Eine Überaktivierung von PARP-1 führt zu übermäßiger PAR-Synthese, NAD<sup>+</sup>- und ATP-Verarmung und schließlich zum Zelltod (153). Darüber hinaus ist PARP-1 an der Entstehung von Entzündungen beteiligt, was wiederum die Expression reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) steigert und die genomische Instabilität sowie die Empfindlichkeit der umgebenden Zellen gegenüber Oxidation erhöht (154). Es konnte gezeigt werden, dass Sulfatide eine PARP-1-Aktivierung in organotypischen Mäuseschnittkulturen auslöst. Jene konnte durch Olaparib deutlich abgeschwächt werden. PARP-1 scheint demnach eine Schlüsselrolle bei der durch die Anhäufung von Sulfatiden ausgelösten Entzündung und Demyelinisierung in organotypischen Mäuseschnittkulturen zu spielen, was durch Olaparib rückgängig gemacht werden kann (9).

#### **4.4.4 Neueste Entwicklungen**

Bei der Substratreduktionstherapie (SRT) wird die Ceramid-Galaktosyltransferase durch einen potenten und selektiven niedermolekularen Inhibitor gehemmt (155,156). In MLD-Mausmodellen konnten verminderte Sulfatid- und Lyosulfatidspiegel beobachtet werden (156). Weitere Studien sind jedoch erforderlich, da sich die chronische Hemmung der Galaktosyltransferase bei Wildtyp-Mäusen in negative Auswirkungen sowohl auf das ZNS als auch auf das PNS zeigte (156).

Auch die Behandlung mit mesenchymalen Stammzellen (MSZ) nach Durchführung einer HSZT wurde untersucht (157). MSZ können ARSA absondern und haben bei

MLD-Patient\*innen positive Wirkungen gezeigt. Es konnte festgestellt werden, dass Patient\*innen mit MSZ signifikant höhere ARSA-Werte aufweisen, eine signifikante Auswirkung auf die klinischen Symptome konnte jedoch nicht gezeigt werden (157).

Neben der HSZT gibt es demnach noch weitere vielversprechende Methoden und Ideen zur Behandlung der MLD. Vor allem die lentivirale Gentherapie eröffnet neue Behandlungsmethoden auch für Kinder mit der spät-infantilen Form der MLD.

#### **4.4.5 Neugeborenen-Screening**

Um der Frage nach der Notwendigkeit der Aufnahme der MLD in das Neugeborenencreening nachzugehen, fehlt noch die Antwort auf die Frage nach einem geeigneten Testinstrument. In Studien konnte gezeigt werden, dass das Vorhandensein erhöhter Sulfatide anhand von getrockneten Blutflecken nachgewiesen werden kann (158,159). Die Überprüfung und Bestätigung für diesen Neugeborenencreening-Ansatz wurde 2023 in einer Pilotstudie in Deutschland bei 80 000 Neugeborenen erbracht (160,161). Eine 2022 in den USA durchgeführte Studie bestätigte ebenfalls die Durchführbarkeit des Neugeborenencreening für die MLD unter Verwendung eines zweistufigen Ansatzes (162). Im ersten Schritt wurden C16:0-Sulfatide quantifiziert und bei auffälligen Ergebnissen in Schritt zwei die ARSA-Aktivität gemessen. Dieser Ansatz führte bei einer Kohorte von 27 335 Neugeborenen zu einer nahezu 100%igen Testspezifität. Kubaski et al. gelang sogar die pränataldiagnostische Quantifizierung von Sulfatiden (163). Hierbei wurde aufgrund einer MLD-Risikoschwangerschaft C16:0-Sulfatid im Fruchtwasserüberstand gemessen, was zum einen die Möglichkeit einer sehr frühen Verdachtsdiagnosestellung aufzeigt, darüber hinaus aber auch den Nachweis liefert, dass es bereits sehr früh im fötalen Entwicklungsstadium zu Sulfatidakkumulation kommt.

Neben der technischen Umsetzbarkeit darf aber auch nie das einzelne Leben aus dem Blick geraten. Eine kürzlich im Vereinigten Königreich durchgeführte qualitative Umfrage unter MLD-Betreuer\*innen untermauert nachdrücklich die Notwendigkeit eines Neugeborenencreening-Programms (158). Diese Umfrage umfasste Familien mit einem bereits erkrankten Kind, die von einem pränatalen Screening oder einem Screening bei der Geburt weiterer Kinder profitieren könnten.

Abschließend soll gesagt werden, dass für die Aufnahme in das Neugeborenencreening ein Grenzwert von 8,5 Punkten und mehr im Inherited Metabolic Diseases (IMD) NBS evaluation algorithm empfohlen wird (164). Mit einem Wert von 10,5 Punkten (165) erfüllt die MLD die Einschlusskriterien und sollte daher in das Neugeborenencreening-Programm aufgenommen werden. (166).

#### **4.5 Schlussfolgerung**

Die dargelegten neuen Therapiemethoden sind vielversprechend und geben Hoffnung auf bessere Behandlungsmöglichkeiten für Kinder und Jugendliche mit MLD. Dennoch soll an dieser Stelle gesagt werden, dass die HSZT, wie sie in dieser Studie durchgeführt wurde, noch immer die einzige Therapieoption neben einer rein symptomatischen Behandlung der juvenilen MLD darstellt. Deshalb ist es so wichtig, die Auswirkungen und Folgen besser zu verstehen und dadurch die Einschlusskriterien so zu wählen, dass möglichst viele Kinder davon profitieren können. Die vorgelegte Arbeit soll dem Rechnung tragen. Zusammenfassend kann aus unseren Daten interpretiert werden, dass die ersten 12 bis 18 Monate nach der Transplantation entscheidend für die Stabilisierung oder das Fortschreiten der Erkrankung sind. Eine gute grobmotorische Funktion und wenige MRT-Anomalien gehen mit einer hohen Wahrscheinlichkeit der Krankheitsstabilisierung einher. Die Verschlechterung der kognitiven Funktion verlief in dieser Kohorte parallel zur Verschlechterung der grobmotorischen Funktionen. Bei Patient\*innen, die nach der HSZT ein rasches und schweres Fortschreiten der Erkrankung zeigten, verschlechterte sich die Situation schneller als bei nicht transplantierten Patient\*innen, was auf einen auslösenden Effekt der HSZT auf die Progredienz der Erkrankung hinweist. Insgesamt unterstreichen unsere Daten die Bedeutung einer Transplantation in einem frühen Krankheitsstadium ohne deutliche grobmotorische Symptome und mit einem niedrigen MRT-Score für eine gute Prognose.

## 5 Zusammenfassung

Die hämatopoetische Stammzelltransplantation (HSZT) war in den letzten 30 Jahren die einzige verfügbare Therapieoption für die juvenile metachromatische Leukodystrophie (MLD). Während die Langzeitergebnisse bereits systematisch untersucht wurden, war das Ziel dieser Arbeit, den frühen Krankheitsverlauf nach HSZT zu charakterisieren, prognostische Faktoren für ein stabiles Outcome zu finden und zu untersuchen, ob die HSZT eventuell einen negativen Effekt auf das Fortschreiten der Erkrankung haben könnte.

In dieser Studie wurde der klinische Verlauf in den ersten 24 Monaten nach der HSZT bei 12 Kindern, die an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen transplantiert wurden, untersucht (mittlere Nachbeobachtungszeit 6,75 Jahre, Spanne 3-13,5 Jahre) und mit 35 nicht-transplantierten Kindern mit juveniler MLD verglichen. Die motorische (GMFM-88 und GMFC-MLD) und kognitive Funktion (IQ) sowie die periphere Neuropathie (NLG des N. tibialis) und die zerebralen Veränderungen (MLD MR Severity Score) wurden prospektiv getestet.

12 Kinder wurden erfolgreich und ohne relevante Komplikationen transplantiert. Sieben Kinder blieben über einen langen Zeitraum neurologisch stabil, fünf zeigten in den ersten 12 bis 18 Monaten nach der Transplantation ein rasches Fortschreiten der Erkrankung. Positive prognostische Faktoren waren eine gute motorische Funktion (GMFM = 100 %, GMFC-MLD = 0) und ein niedriger MLD MR Severity Score ( $\leq 17$ ) zum Zeitpunkt der HSZT. Bei den Kindern, die unter einer schnellen Krankheitsprogredienz litten, war die Zeit von den ersten grobmotorischen Symptomen bis zum Verlust des selbstständigen Gehens im Vergleich zu nicht-transplantierten Patient\*innen im gleichen Krankheitsstadium signifikant kürzer ( $p < 0,02$ ).

Unsere Ergebnisse zeigen, dass ein Fortschreiten der Erkrankung, wenn es denn dazu kommt, schon früh nach der HSZT eintritt. Eine gute grobmotorische Funktion, sowie geringe Auffälligkeiten im MRT gehen mit hoher Wahrscheinlichkeit für einen stabilen Krankheitsverlauf einher. Die Verschlechterung der kognitiven Funktion verlief parallel zur Verschlechterung der Grobmotorik. Bei Patient\*innen, die unter einer schnellen Krankheitsprogredienz litten, verlief die grobmotorische

Verschlechterung schneller als bei nicht-transplantierten Patient\*innen, was darauf hindeutet, dass die HSZT das Fortschreiten der Erkrankung auslösen kann.

Zusammengenommen unterstreichen unsere Daten die Bedeutung einer HSZT in frühem Krankheitsstadium ohne deutliche grobmotorische Symptome und mit geringen Auffälligkeiten im MRT für ein gutes prognostisches Outcome.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Gieselmann V, Krägeloh-Mann I. Metachromatic Leukodystrophy. In: The online metabolic and molecular bases of inherited disease. New York: McGraw-Hill; 2014. S. 148.
2. Gieselmann V. Metachromatic Leukodystrophy: Recent Research Developments. *J Child Neurol.* 1. September 2003;18(9):591–4.
3. Sriram CS, Jangra A, Kasala ER, Bodduluru LN, Bezbaruah BK. Targeting poly(ADP-ribose)polymerase1 in neurological diseases: A promising trove for new pharmacological interventions to enter clinical translation. *Neurochem Int.* 1. Oktober 2014;76:70–81.
4. Rosenberg JB, Kaminsky SM, Aubourg P, Crystal RG, Sondhi D. Gene therapy for metachromatic leukodystrophy. *J Neurosci Res.* 2016;94(11):1169–79.
5. Givogri MI, Bottai D, Zhu HL, Fasano S, Lamorte G, Brambilla R, u. a. Multipotential neural precursors transplanted into the metachromatic leukodystrophy brain fail to generate oligodendrocytes but contribute to limit brain dysfunction. *Dev Neurosci.* 2008;30(5):340–57.
6. Jeon SB, Yoon HJ, Park SH, Kim IH, Park EJ. Sulfatide, A Major Lipid Component of Myelin Sheath, Activates Inflammatory Responses As an Endogenous Stimulator in Brain-Resident Immune Cells<sup>1</sup>. *J Immunol.* 1. Dezember 2008;181(11):8077–87.
7. Konno A, Nunogami K, Wada T, Yachie A, Suzuki Y, Takahashi N, u. a. Inhibitory action of sulfatide, a putative ligand for L-selectin, on B cell proliferation and Ig production. *Int Immunol.* 1. Dezember 1996;8(12):1905–13.
8. Kanamori M, Tasumi Y, Iyoda T, Ushida M, Inaba K. Sulfatide inhibits  $\alpha$ -galactosylceramide presentation by dendritic cells. *Int Immunol.* 1. Februar 2012;24(2):129–36.
9. Mekhaeil M, Conroy MJ, Dev KK. Olaparib Attenuates Demyelination and Neuroinflammation in an Organotypic Slice Culture Model of Metachromatic Leukodystrophy. *Neurotherapeutics.* 1. September 2023;20(5):1347–68.

10. Lyra e Silva NM, Gonçalves RA, Pascoal TA, Lima-Filho RAS, Resende E de PF, Vieira ELM, u. a. Pro-inflammatory interleukin-6 signaling links cognitive impairments and peripheral metabolic alterations in Alzheimer's disease. *Transl Psychiatry*. 28. April 2021;11(1):1–15.
11. Nasiri E, Sankowski R, Dietrich H, Oikonomidi A, Huerta PT, Popp J, u. a. Key role of MIF-related neuroinflammation in neurodegeneration and cognitive impairment in Alzheimer's disease. *Mol Med*. 17. April 2020;26(1):34.
12. Muhammad M. Tumor Necrosis Factor Alpha: A Major Cytokine of Brain Neuroinflammation. In: *Cytokines* [Internet]. IntechOpen; 2019 [zitiert 8. September 2023]. Verfügbar unter: <https://www.intechopen.com/chapters/68123>
13. Gieselmann V. Metachromatic leukodystrophy: genetics, pathogenesis and therapeutic options. *Acta Paediatr*. 2008;97(s457):15–21.
14. Biffi A, Cesani M, Fumagalli F, Carro UD, Baldoli C, Canale S, u. a. Metachromatic leukodystrophy – mutation analysis provides further evidence of genotype–phenotype correlation. *Clin Genet*. 2008;74(4):349–57.
15. Kehrer C, Elgün S, Raabe C, Böhringer J, Beck-Wödl S, Bevoit A, u. a. Association of Age at Onset and First Symptoms With Disease Progression in Patients With Metachromatic Leukodystrophy. *Neurology*. 12. Januar 2021;96(2):e255–66.
16. Polten A, Fluharty AL, Fluharty CB, Kappler J, von Figura K, Gieselmann V. Molecular basis of different forms of metachromatic leukodystrophy. *N Engl J Med*. 3. Januar 1991;324(1):18–22.
17. Berger J, Löschl B, Bernheimer H, Lugowska A, Tyłki-Szymanska A, Gieselmann V, u. a. Occurrence, distribution, and phenotype of arylsulfatase A mutations in patients with metachromatic leukodystrophy. *Am J Med Genet*. 31. März 1997;69(3):335–40.
18. Cesani M, Capotondo A, Plati T, Sergi LS, Fumagalli F, Roncarolo MG, u. a. Characterization of new arylsulfatase A gene mutations reinforces genotype-phenotype correlation in metachromatic leukodystrophy. *Hum Mutat*. Oktober 2009;30(10):E936-945.

19. Gieselmann V, Krägeloh-Mann I. Metachromatic Leukodystrophy – An Update. *Neuropediatrics*. Februar 2010;41(1):1–6.
20. Kappler J, Leinekugel P, Conzelmann E, Kleijer WJ, Kohlschütter A, Tønnesen T, u. a. Genotype-phenotype relationship in various degrees of arylsulfatase A deficiency. *Hum Genet*. März 1991;86(5):463–70.
21. Santhanakumaran V, Groeschel S, Harzer K, Kehrer C, Elgün S, Beck-Wödl S, u. a. Predicting clinical phenotypes of metachromatic leukodystrophy based on the arylsulfatase A activity and the ARSA genotype? – Chances and challenges. *Mol Genet Metab*. 1. November 2022;137(3):273–82.
22. Gieselmann V, Polten A, Kreysing J, Kappler J, Fluharty A, von Figura K. Molecular Genetics of Metachromatic Leukodystrophy. *Dev Neurosci*. 16. Dezember 1991;13(4–5):222–7.
23. Beerepoot S, van Dooren SJM, Salomons GS, Boelens JJ, Jacobs EH, van der Knaap MS, u. a. Metachromatic leukodystrophy genotypes in The Netherlands reveal novel pathogenic ARSA variants in non-Caucasian patients. *neurogenetics*. 1. Oktober 2020;21(4):289–99.
24. Böhringer J, Santer R, Schumacher N, Gieseke F, Cornils K, Pechan M, u. a. Enzymatic characterization of novel arylsulfatase A variants using human arylsulfatase A-deficient immortalized mesenchymal stromal cells. *Hum Mutat*. November 2017;38(11):1511–20.
25. Rauschka H, Colsch B, Baumann N, Wevers R, Schmidbauer M, Krammer M, u. a. Late-onset metachromatic leukodystrophy: genotype strongly influences phenotype. *Neurology*. 12. September 2006;67(5):859–63.
26. Gieselmann V, Polten A, Kreysing J, von Figura K. Arylsulfatase A pseudodeficiency: loss of a polyadenylation signal and N-glycosylation site. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Dezember 1989;86(23):9436–40.
27. Penzien JM, Kappler J, Herschkowitz N, Schuknecht B, Leinekugel P, Propping P, u. a. Compound heterozygosity for metachromatic leukodystrophy and arylsulfatase A pseudodeficiency alleles is not associated with progressive neurological disease. *Am J Hum Genet*. März 1993;52(3):557–64.

28. Heim P, Claussen M, Hoffmann B, Conzelmann E, Gärtner J, Harzer K, u. a. Leukodystrophy incidence in Germany. *Am J Med Genet.* 5. September 1997;71(4):475–8.
29. Lugowska A, Amaral O, Berger J, Berna L, Bosshard NU, Chabas A, u. a. Mutations c.459+1G>A and p.P426L in the ARSA gene: prevalence in metachromatic leukodystrophy patients from European countries. *Mol Genet Metab.* November 2005;86(3):353–9.
30. Poorthuis BJ, Wevers RA, Kleijer WJ, Groener JE, de Jong JG, van Weely S, u. a. The frequency of lysosomal storage diseases in The Netherlands. *Hum Genet.* 1999;105(1–2):151–6.
31. Kehrer C, Blumenstock G, Gieselmann V, Krägeloh-Mann I, Leukonet OB of the G. The natural course of gross motor deterioration in metachromatic leukodystrophy. *Dev Med Child Neurol.* 2011;53(9):850–5.
32. Kehrer C, Groeschel S, Kustermann-Kuhn B, Bürger F, Köhler W, Kohlschütter A, u. a. Language and cognition in children with metachromatic leukodystrophy: onset and natural course in a nationwide cohort. *Orphanet J Rare Dis.* 5. Februar 2014;9:18.
33. Kumperscak HG, Plesnicar BK, Zalar B, Gradisnik P, Seruga T, Paschke E. Adult metachromatic leukodystrophy: a new mutation in the schizophrenia-like phenotype with early neurological signs. *Psychiatr Genet.* April 2007;17(2):85.
34. K VF. Metachromatic leukodystrophy: lysosomal disorders. *Metab Mol Bases Inherit Dis.* 2001;3695–724.
35. Colsch B, Afonso C, Turpin JC, Portoukalian J, Tabet JC, Baumann N. Sulfogalactosylceramides in motor and psycho-cognitive adult metachromatic leukodystrophy: relations between clinical, biochemical analysis and molecular aspects. *Biochim Biophys Acta.* März 2008;1780(3):434–40.
36. Sadovnick AD, Tuokko H, Applegarth DA, Toone JR, Hadjistavropoulos T, Beattie BL. The differential diagnosis of adult onset metachromatic leukodystrophy and early onset familial Alzheimer disease in an Alzheimer clinic population. *Can J Neurol Sci J Can Sci Neurol.* November 1993;20(4):312–8.

37. Suzuki C, Watanabe M, Tomiyama M, Sugimoto K, Nanba E, Jackson M, u. a. A novel mutation in the arylsulfatase A gene associated with adult-onset metachromatic leukodystrophy without clinical evidence of neuropathy. *Eur Neurol.* 2008;60(6):310–1.
38. Zafeiriou DI, Kontopoulos EE, Michelakakis HM, Anastasiou AL, Gombakis NP. Neurophysiology and MRI in late-infantile metachromatic leukodystrophy. *Pediatr Neurol.* 1. November 1999;21(5):843–6.
39. Barkovich AJ. *Pediatric Neuroimaging.* Lippincott Williams & Wilkins; 2005. 995 S.
40. Kim TS, Kim IO, Kim WS, Choi YS, Lee JY, Kim OW, u. a. MR of childhood metachromatic leukodystrophy. *AJNR Am J Neuroradiol.* April 1997;18(4):733–8.
41. Groeschel S, Kehrer C, Engel C, í Dali C, Bley A, Steinfeld R, u. a. Metachromatic leukodystrophy: natural course of cerebral MRI changes in relation to clinical course. *J Inherit Metab Dis.* 2011;34(5):1095.
42. Groeschel S, í Dali C, Clas P, Böhringer J, Duno M, Krarup C, u. a. Cerebral gray and white matter changes and clinical course in metachromatic leukodystrophy. *Neurology.* 16. Oktober 2012;79(16):1662–70.
43. Strölin M, Krägeloh-Mann I, Kehrer C, Wilke M, Groeschel S. Demyelination load as predictor for disease progression in juvenile metachromatic leukodystrophy. *Ann Clin Transl Neurol.* 16. Mai 2017;4(6):403–10.
44. Peters C, Steward CG. Hematopoietic cell transplantation for inherited metabolic diseases: an overview of outcomes and practice guidelines. *Bone Marrow Transplant.* Februar 2003;31(4):229–39.
45. Biffi A, Lucchini G, Rovelli A, Sessa M. Metachromatic leukodystrophy: an overview of current and prospective treatments. *Bone Marrow Transplant.* Oktober 2008;42(2):S2–6.
46. Wolf NI, Breur M, Plug B, Beerepoot S, Westerveld ASR, van Rappard DF, u. a. Metachromatic leukodystrophy and transplantation: remyelination, no cross-correction. *Ann Clin Transl Neurol.* Februar 2020;7(2):169–80.

47. Muschol N, Matzner U, Tiede S, Gieselmann V, Ullrich K, Bräulke T. Secretion of phosphomannosyl-deficient arylsulphatase A and cathepsin D from isolated human macrophages. *Biochem J.* 15. Dezember 2002;368(Pt 3):845–53.
48. Kapaun P, Dittmann RW, Granitzny B, Eickhoff W, Wulbrand H, Neumaier-Probst E, u. a. Slow Progression of Juvenile Metachromatic Leukodystrophy 6 Years After Bone Marrow Transplantation. *J Child Neurol.* 1. April 1999;14(4):222–8.
49. Krägeloh-Mann I, Groeschel S, Kehrer C, Opherk K, Nägele T, Handgretinger R, u. a. Juvenile metachromatic leukodystrophy 10 years post transplant compared with a non-transplanted cohort. *Bone Marrow Transplant.* März 2013;48(3):369–75.
50. Solders M, Martin DA, Andersson C, Remberger M, Andersson T, Ringdén O, u. a. Hematopoietic SCT: a useful treatment for late metachromatic leukodystrophy. *Bone Marrow Transplant.* August 2014;49(8):1046–51.
51. de Hosson LD, van de Warrenburg BPC, Preijers FWMB, Blijlevens NMA, van der Reijden BA, Kremer HPH, u. a. Adult metachromatic leukodystrophy treated by allo-SCT and a review of the literature. *Bone Marrow Transplant.* August 2011;46(8):1071–6.
52. Groeschel S, Kühl JS, Bley AE, Kehrer C, Weschke B, Döring M, u. a. Long-term Outcome of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Patients With Juvenile Metachromatic Leukodystrophy Compared With Nontransplanted Control Patients. *JAMA Neurol.* 1. September 2016;73(9):1133–40.
53. van Rappard DF, Boelens JJ, Wolf NI. Metachromatic leukodystrophy: Disease spectrum and approaches for treatment. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 1. März 2015;29(2):261–73.
54. Krivit W, Peters C, Shapiro EG. 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.* April 1999;12(2):167–76.

55. Musolino PL, Lund TC, Pan J, Escolar ML, Paker AM, Duncan CN, u. a. Hematopoietic Stem Cell Transplantation in the Leukodystrophies: A Systematic Review of the Literature. *Neuropediatrics*. Juni 2014;45(3):169–74.
56. Krivit W, Lockman LA, Watkins PA, Hirsch J, Shapiro EG. The future for treatment by bone marrow transplantation for adrenoleukodystrophy, metachromatic leukodystrophy, globoid cell leukodystrophy and Hurler syndrome. *J Inher Metab Dis*. 1995;18(4):398–412.
57. van den Broek BTA, Page K, Paviglianiti A, Hol J, Allewelt H, Volt F, u. a. Early and late outcomes after cord blood transplantation for pediatric patients with inherited leukodystrophies. *Blood Adv*. 4. Januar 2018;2(1):49–60.
58. Martin HR, Poe MD, Provenzale JM, Kurtzberg J, Mendizabal A, Escolar ML. Neurodevelopmental Outcomes of Umbilical Cord Blood Transplantation in Metachromatic Leukodystrophy. *Biol Blood Marrow Transplant*. 1. April 2013;19(4):616–24.
59. van Rappard DF, Boelens JJ, van Egmond ME, Kuball J, van Hasselt PM, Oostrom KJ, u. a. Efficacy of hematopoietic cell transplantation in metachromatic leukodystrophy: the Dutch experience. *Blood*. 16. Juni 2016;127(24):3098–101.
60. Cable C, Finkel RS, Lehky TJ, Biassou NM, Wiggs EA, Bunin N, u. a. Unrelated umbilical cord blood transplant for juvenile metachromatic leukodystrophy: A five-year follow-up in three affected siblings. *Mol Genet Metab*. Februar 2011;102(2):207–9.
61. Görg M, Wilck W, Granitzny B, Suerken A, Lukacs Z, Ding X, u. a. Stabilization of Juvenile Metachromatic Leukodystrophy After Bone Marrow Transplantation: A 13-Year Follow-up. *J Child Neurol*. 1. September 2007;22(9):1139–42.
62. Kidd D, Nelson J, Jones F, Dusoir H, Wallace I, McKinstry S, u. a. Long-term Stabilization After Bone Marrow Transplantation in Juvenile Metachromatic Leukodystrophy. *Arch Neurol*. 1. Januar 1998;55(1):98–9.
63. Smith NJ, Marcus RE, Sahakian BJ, Kapur N, Cox TM. Haematopoietic stem cell transplantation does not retard disease progression in the psycho-cognitive

variant of late-onset metachromatic leukodystrophy. *J Inherit Metab Dis.* 2010;33(S3):471–5.

64. Krivit W. Allogeneic stem cell transplantation for the treatment of lysosomal and peroxisomal metabolic diseases. *Springer Semin Immunopathol.* 1. November 2004;26(1):119–32.

65. Beschle J, Döring M, Kehrer C, Raabe C, Bayha U, Strölin M, u. a. Early clinical course after hematopoietic stem cell transplantation in children with juvenile metachromatic leukodystrophy. *Mol Cell Pediatr.* 3. September 2020;7(1):12.

66. Russell DJ, Rosenbaum PL, Cadman DT, Gowland C, Hardy S, Jarvis S. The Gross Motor Function Measure: A Means to Evaluate the Effects of Physical Therapy. *Dev Med Child Neurol.* 1989;31(3):341–52.

67. Russell DJ, Avery LM, Rosenbaum PL, Raina PS, Walter SD, Palisano RJ. Improved scaling of the gross motor function measure for children with cerebral palsy: evidence of reliability and validity. *Phys Ther.* September 2000;80(9):873–85.

68. Kehrer C, Blumenstock G, Raabe C, Krägeloh-Mann I. Development and reliability of a classification system for gross motor function in children with metachromatic leucodystrophy. *Dev Med Child Neurol.* 2011;53(2):156–60.

69. Palisano R, Rosenbaum P, Walter S, Russell D, Wood E, Galuppi B. Development and reliability of a system to classify gross motor function in children with cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol.* 1997;39(4):214–23.

70. Rosenbaum PL, Palisano RJ, Bartlett DJ, Galuppi BE, Russell DJ. Development of the Gross Motor Function Classification System for cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol.* 2008;50(4):249–53.

71. Preston DC, Shapiro BE. *Electromyography and neuromuscular disorders: clinical-electrophysiologic correlations.* 3rd Edition. London, New York: Elsevier Saunders; 2013.

72. Eichler F, Grodd W, Grant E, Sessa M, Biffi A, Bley A, u. a. Metachromatic Leukodystrophy: A Scoring System for Brain MR Imaging Observations. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2009;30(10):1893–7.

73. Boucher AA, Miller W, Shanley R, Ziegler R, Lund T, Raymond G, u. a. Long-term outcomes after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for

metachromatic leukodystrophy: the largest single-institution cohort report. *Orphanet J Rare Dis.* 7. August 2015;10:94.

74. Malm G, Ringdén O, Winiarski J, Gröndahl E, Uyebrant P, Eriksson U, u. a. Clinical outcome in four children with metachromatic leukodystrophy treated by bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* Juni 1996;17(6):1003–8.

75. Orchard PJ, Blazar BR, Wagner J, Charnas L, Krivit W, Tolar J. Hematopoietic Cell Therapy for Metabolic Disease. *J Pediatr.* Oktober 2007;151(4):340–6.

76. Ding XQ, Bley A, Kohlschütter A, Fiehler J, Lanfermann H. Long-term neuroimaging follow-up on an asymptomatic juvenile metachromatic leukodystrophy patient after hematopoietic stem cell transplantation: Evidence of myelin recovery and ongoing brain maturation. *Am J Med Genet A.* 2012;158A(1):257–60.

77. van Egmond ME, Pouwels PJW, Boelens JJ, Lindemans CA, Barkhof F, Steenwijk MD, u. a. Improvement of White Matter Changes on Neuroimaging Modalities After Stem Cell Transplant in Metachromatic Leukodystrophy. *JAMA Neurol.* 1. Juni 2013;70(6):779–82.

78. Beerepoot S, Nierkens S, Boelens JJ, Lindemans C, Bugiani M, Wolf NI. Peripheral neuropathy in metachromatic leukodystrophy: current status and future perspective. *Orphanet J Rare Dis.* 4. November 2019;14:240.

79. Capotondo A, Milazzo R, Politi LS, Quattrini A, Palini A, Plati T, u. a. Brain conditioning is instrumental for successful microglia reconstitution following hematopoietic stem cell transplantation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 11. September 2012;109(37):15018–23.

80. Wilkinson FL, Sergijenko A, Langford-Smith KJ, Malinowska M, Wynn RF, Bigger BW. Busulfan conditioning enhances engraftment of hematopoietic donor-derived cells in the brain compared with irradiation. *Mol Ther J Am Soc Gene Ther.* April 2013;21(4):868–76.

81. Böttcher C, Fernández-Klett F, Gladow N, Rolfes S, Priller J. Targeting myeloid cells to the brain using non-myeloablative conditioning. *PLoS One.* 2013;8(11):e80260.

82. Tillema JM, Derks MG, Pouwels PJW, de Graaf P, van Rappard DF, Barkhof F, u. a. Volumetric MRI data correlate to disease severity in metachromatic leukodystrophy. *Ann Clin Transl Neurol.* September 2015;2(9):932–40.
83. Pierson TM, Bonnemann CG, Finkel RS, Bunin N, Tennekoon GI. Umbilical cord blood transplantation for juvenile metachromatic leukodystrophy. *Ann Neurol.* November 2008;64(5):583–7.
84. Rovelli AM. The controversial and changing role of haematopoietic cell transplantation for lysosomal storage disorders: an update. *Bone Marrow Transplant.* Juni 2008;41(2):S87–9.
85. Eichler F, Sevin C, Barth M, Pang F, Howie K, Walz M, u. a. Understanding caregiver descriptions of initial signs and symptoms to improve diagnosis of metachromatic leukodystrophy. *Orphanet J Rare Dis.* 4. Oktober 2022;17:370.
86. Barba P, Piñana JL, Valcárcel D, Querol L, Martino R, Sureda A, u. a. Early and Late Neurological Complications after Reduced-Intensity Conditioning Allogeneic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 1. November 2009;15(11):1439–46.
87. Bleggi-Torres LF, de Medeiros BC, Werner B, Neto Jz, Loddo G, Pasquini R, u. a. Neuropathological findings after bone marrow transplantation: an autopsy study of 180 cases. *Bone Marrow Transplant.* Februar 2000;25(3):301–7.
88. Iguchi A, Kobayashi R, Yoshida M, Kaneda M, Watanabe N, Cho Y, u. a. Neurological complications after stem cell transplantation in childhood. *Bone Marrow Transplant.* September 1999;24(6):647–52.
89. Wiznitzer M, Packer RJ, August CS, Burkey ED. Neurological complications of bone marrow transplantation in childhood. *Ann Neurol.* November 1984;16(5):569–76.
90. Garrick R. Neurological complications. In: n: Atkinson K (ed) *Clinical Bone Marrow and Blood Stem Cell Transplantation.* Cambridge, UK: Cambridge University Press; 2000. S. 958-979.
91. Oppenshaw H. Neurological complications. In: In: Forman SJ, Blume KG, Thomas (eds) *Bone Marrow Transplantation.* Oxford, UK: Blackwell Scientific Publications; 1999. S. 659–73.

92. Siegal D, Keller A, Xu W, Bhuta S, Kim DH, Kuruvilla J, u. a. Central Nervous System Complications after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Incidence, Manifestations, and Clinical Significance. *Biol Blood Marrow Transplant.* 1. November 2007;13(11):1369–79.
93. Weber C, Schaper J, Tibussek D, Adams O, Mackenzie CR, Dilloo D, u. a. Diagnostic and therapeutic implications of neurological complications following paediatric haematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* Februar 2008;41(3):253–9.
94. Caselli D, Rosati A, Faraci M, Podda M, Ripaldi M, Longoni D, u. a. Risk of Seizures in Children Receiving Busulphan-Containing Regimens for Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 1. Februar 2014;20(2):282–5.
95. Maffini E, Festuccia M, Brunello L, Boccadoro M, Giaccone L, Bruno B. Neurologic Complications after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 1. März 2017;23(3):388–97.
96. McDonald JW, Goldberg MP, Gwag BJ, Chi SI, Choi DW. Cyclosporine induces neuronal apoptosis and selective oligodendrocyte death in cortical cultures. *Ann Neurol.* November 1996;40(5):750–8.
97. Gijtenbeek JMM, van den Bent MJ, Vecht CJ. Cyclosporine neurotoxicity: a review. *J Neurol.* 1. Mai 1999;246(5):339–46.
98. Morgan BJ, Lyson T, Scherrer U, Victor RG. Cyclosporine causes sympathetically mediated elevations in arterial pressure in rats. *Hypertension.* Oktober 1991;18(4):458–66.
99. de Groen PC, Aksamit AJ, Rakela J, Forbes GS, Krom RA. Central nervous system toxicity after liver transplantation. The role of cyclosporine and cholesterol. *N Engl J Med.* 1. Oktober 1987;317(14):861–6.
100. Thompson Craig B, Sullivan Keith M, June Carl H, Thomas ED. Association between cyclosporin neurotoxicity and hypomagnesaemia. *The Lancet.* 17. November 1984;324(8412):1116–20.
101. Bechstein WO. Neurotoxicity of calcineurin inhibitors: impact and clinical management. *Transpl Int Off J Eur Soc Organ Transplant.* 2000;13(5):313–26.

102. Uckan D, Cetin M, Yigitkanli İ, Tezcan İ, Tuncer M, Karasimav D, u. a. Life-threatening neurological complications after bone marrow transplantation in children. *Bone Marrow Transplant*. Januar 2005;35(1):71–6.
103. Siddiqi ZA, Sanders DB, Massey JM. Peripheral neuropathy in Krabbe disease: Effect of hematopoietic stem cell transplantation. *Neurology*. 25. Juli 2006;67(2):268–72.
104. Grewal SS, Shapiro EG, Krivit W, Charnas L, Lockman LA, Delaney KA, u. a. Effective treatment of  $\alpha$ -mannosidosis by allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Pediatr*. 1. Mai 2004;144(5):569–73.
105. Bhatt NS, Baassiri MJ, Liu W, Bhakta N, Chemaitilly W, Ehrhardt MJ, u. a. Late outcomes in survivors of childhood acute myeloid leukemia: a report from the St. Jude Lifetime Cohort Study. *Leukemia*. August 2021;35(8):2258–73.
106. Perkins JL, Kunin-Batson AS, Youngren NM, Ness KK, Ulrich KJ, Hansen MJ, u. a. Long-term follow-up of children who underwent hematopoietic cell transplant (HCT) for AML or ALL at less than 3 years of age. *Pediatr Blood Cancer*. Dezember 2007;49(7):958–63.
107. Smedler AC, Winiarski J. Neuropsychological outcome in very young hematopoietic SCT recipients in relation to pretransplant conditioning. *Bone Marrow Transplant*. Oktober 2008;42(8):515–22.
108. Shah AJ, Epport K, Azen C, Killen R, Wilson K, De Clerck D, u. a. Progressive declines in neurocognitive function among survivors of hematopoietic stem cell transplantation for pediatric hematologic malignancies. *J Pediatr Hematol Oncol*. Juni 2008;30(6):411–8.
109. Willard VW, Leung W, Huang Q, Zhang H, Phipps S. Cognitive outcome after pediatric stem-cell transplantation: impact of age and total-body irradiation. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 10. Dezember 2014;32(35):3982–8.
110. Kupst MJ, Penati B, Debban B, Camitta B, Pietryga D, Margolis D, u. a. Cognitive and psychosocial functioning of pediatric hematopoietic stem cell transplant patients: A prospective longitudinal study. *Bone Marrow Transplant*. November 2002;30(9):609–17.

111. Hiniker SM, Agarwal R, Modlin LA, Gray CC, Harris JP, Million L, u. a. Survival and neurocognitive outcomes after cranial or craniospinal irradiation plus total-body irradiation before stem cell transplantation in pediatric leukemia patients with central nervous system involvement. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1. Mai 2014;89(1):67–74.
112. Wu NL, Krull KR, Cushing-Haugen KL, Ullrich NJ, Kadan-Lottick NS, Lee SJ, u. a. Long-term neurocognitive and quality of life outcomes in survivors of pediatric hematopoietic cell transplant. *J Cancer Surviv.* 1. Juni 2022;16(3):696–704.
113. Kramer JH, Crittenden MR, DeSantes K, Cowan MJ. Cognitive and adaptive behavior 1 and 3 years following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* März 1997;19(6):607–13.
114. Lajiness-O'Neill R, Hoodin F, Kentor R, Heinrich K, Colbert A, Connelly JA. Alterations in Memory and Impact on Academic Outcomes in Children Following Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Arch Clin Neuropsychol.* 1. November 2015;30(7):657–69.
115. Phipps S, Brenner M, Heslop H, Krance R, Jayawardene D, Mulhern R. Psychological effects of bone marrow transplantation on children and adolescents: preliminary report of a longitudinal study. *Bone Marrow Transplant.* Juni 1995;15(6):829–35.
116. Simms S, Kazak AE, Gannon T, Goldwein J, Bunin N. Neuropsychological outcome of children undergoing bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* Juli 1998;22(2):181–4.
117. Phipps S, Rai SN, Leung WH, Lensing S, Dunavant M. Cognitive and Academic Consequences of Stem-Cell Transplantation in Children. *J Clin Oncol.* 20. April 2008;26(12):2027–33.
118. Schofield HLT, Fabrizio VA, Braniecki S, Pelletier W, Eissa H, Murphy B, u. a. Monitoring Neurocognitive Functioning After Pediatric Cellular Therapy or Hematopoietic Cell Transplant: Guidelines From the COG Neurocognition in Cellular Therapies Task Force. *Transplant Cell Ther.* Oktober 2022;28(10):625–36.
119. Cheung YT, Sabin ND, Reddick WE, Bhojwani D, Liu W, Brinkman TM, u. a. Leukoencephalopathy and long-term neurobehavioural, neurocognitive, and brain

imaging outcomes in survivors of childhood acute lymphoblastic leukaemia treated with chemotherapy: a longitudinal analysis. *Lancet Haematol.* Oktober 2016;3(10):e456–66.

120. van der Plas E, Qiu W, Nieman BJ, Yasui Y, Liu Q, Dixon SB, u. a. Sex-Specific Associations Between Chemotherapy, Chronic Conditions, and Neurocognitive Impairment in Acute Lymphoblastic Leukemia Survivors: A Report From the Childhood Cancer Survivor Study. *J Natl Cancer Inst.* 4. Mai 2021;113(5):588–96.

121. Liu W, Cheung YT, Conklin HM, Jacola LM, Srivastava D, Nolan VG, u. a. Evolution of neurocognitive function in long-term survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia treated with chemotherapy only. *J Cancer Surviv Res Pract.* Juni 2018;12(3):398–406.

122. Jim HSL, Small B, Hartman S, Franzen J, Millay S, Phillips K, u. a. Clinical Predictors of Cognitive Function in Adults Treated with Hematopoietic Cell Transplant. *Cancer.* 1. Juli 2012;118(13):3407–16.

123. Reiter-Purtill J, Vannatta K, Gerhardt CA, Correll J, Noll RB. A controlled longitudinal study of the social functioning of children who completed treatment of cancer. *J Pediatr Hematol Oncol.* Juni 2003;25(6):467–73.

124. Lin M, Epport K, Azen C, Parkman R, Kohn DB, Shah AJ. Long-Term Neurocognitive Function of Pediatric Patients with Severe Combined Immune Deficiency (SCID): Pre- and Post-Hematopoietic Stem Cell Transplant (HSCT). *J Clin Immunol.* 2009;29(2):231–7.

125. Cheung YT, Brinkman TM, Li C, Mzayek Y, Srivastava D, Ness KK, u. a. Chronic Health Conditions and Neurocognitive Function in Aging Survivors of Childhood Cancer: A Report from the Childhood Cancer Survivor Study. *J Natl Cancer Inst.* 1. April 2018;110(4):411–9.

126. Said JA, Waters BG, Cousens P, Stevens MM. Neuropsychological sequelae of central nervous system prophylaxis in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Consult Clin Psychol.* 1989;57:251–6.

127. Weber FD, Wiesinger C, Forss-Petter S, Regelsberger G, Einwich A, Weber WHA, u. a. X-linked adrenoleukodystrophy: very long-chain fatty acid metabolism is

severely impaired in monocytes but not in lymphocytes. *Hum Mol Genet.* 15. Mai 2014;23(10):2542–50.

128. Weinhofer I, Zierfuss B, Hametner S, Wagner M, Popitsch N, Machacek C, u. a. Impaired plasticity of macrophages in X-linked adrenoleukodystrophy. *Brain J Neurol.* 1. August 2018;141(8):2329–42.

129. Bergner CG, van der Meer F, Winkler A, Wrzos C, Türkmen M, Valizada E, u. a. Microglia damage precedes major myelin breakdown in X-linked adrenoleukodystrophy and metachromatic leukodystrophy. *Glia.* Juni 2019;67(6):1196–209.

130. Wilson JM, Jungner YG. [Principles and practice of mass screening for disease]. *Boletin Oficina Sanit Panam Pan Am Sanit Bur.* Oktober 1968;65(4):281–393.

131. Matzner U, Hartmann D, Lüllmann-Rauch R, Coenen R, Rothert F, Månsson JE, u. a. Bone marrow stem cell-based gene transfer in a mouse model for metachromatic leukodystrophy: effects on visceral and nervous system disease manifestations. *Gene Ther.* Januar 2002;9(1):53–63.

132. Biffi A, De Palma M, Quattrini A, Del Carro U, Amadio S, Visigalli I, u. a. Correction of metachromatic leukodystrophy in the mouse model by transplantation of genetically modified hematopoietic stem cells. *J Clin Invest.* April 2004;113(8):1118–29.

133. Biffi A, Capotondo A, Fasano S, del Carro U, Marchesini S, Azuma H, u. a. Gene therapy of metachromatic leukodystrophy reverses neurological damage and deficits in mice. *J Clin Invest.* 1. November 2006;116(11):3070–82.

134. Sessa M, Lorioli L, Fumagalli F, Acquati S, Redaelli D, Baldoli C, u. a. 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 Lond Engl.* 30. Juli 2016;388(10043):476–87.

135. Fumagalli F, Calbi V, Natali Sora MG, Sessa M, Baldoli C, Rancoita PMV, u. a. Lentiviral haematopoietic stem-cell gene therapy for early-onset metachromatic leukodystrophy: long-term results from a non-randomised, open-

label, phase 1/2 trial and expanded access. *Lancet Lond Engl.* 22. Januar 2022;399(10322):372–83.

136. Antony JS, Daniel-Moreno A, Lamsfus-Calle A, Raju J, Kaftancioglu M, Ureña-Bailén G, u. a. A Mutation-Agnostic Hematopoietic Stem Cell Gene Therapy for Metachromatic Leukodystrophy. *CRISPR J.* Februar 2022;5(1):66–79.

137. Shaimardanova AA, Chulpanova DS, Solovyeva VV, Mullagulova AI, Kitaeva KV, Allegrucci C, u. a. Metachromatic Leukodystrophy: Diagnosis, Modeling, and Treatment Approaches. *Front Med.* 20. Oktober 2020;7:576221.

138. Penati R, Fumagalli F, Calbi V, Bernardo ME, Aiuti A. Gene therapy for lysosomal storage disorders: recent advances for metachromatic leukodystrophy and mucopolysaccharidosis I. *J Inherit Metab Dis.* 1. Juli 2017;40(4):543–54.

139. Sevin C, Roujeau T, Cartier N, Bagnon T, Adamsbaum C, Piraud M, u. a. Intracerebral gene therapy in children with metachromatic leukodystrophy: Results of a phase I/II trial. *Mol Genet Metab.* 1. Februar 2018;123(2):S129.

140. Kaminski D, Yaghootfam C, Matthes F, Reßing A, Gieselmann V, Matzner U. Brain cell type-specific endocytosis of arylsulfatase A identifies limitations of enzyme-based therapies for metachromatic leukodystrophy. *Hum Mol Genet.* 1. Dezember 2020;29(23):3807–17.

141. Stroobants S, Gerlach D, Matthes F, Hartmann D, Fogh J, Gieselmann V, u. a. Intracerebroventricular enzyme infusion corrects central nervous system pathology and dysfunction in a mouse model of metachromatic leukodystrophy. *Hum Mol Genet.* 15. Juli 2011;20(14):2760–9.

142. Yaghootfam C, Sylvester M, Turk B, Gieselmann V, Matzner U. Engineered arylsulfatase A with increased activity, stability and brain delivery for therapy of metachromatic leukodystrophy. *Mol Ther J Am Soc Gene Ther.* 28. August 2023;S1525-0016(23)00449-5.

143. Matzner U, Lüllmann-Rauch R, Stroobants S, Andersson C, Weigelt C, Eistrup C, u. a. Enzyme Replacement Improves Ataxic Gait and Central Nervous System Histopathology in a Mouse Model of Metachromatic Leukodystrophy. *Mol Ther J Am Soc Gene Ther.* April 2009;17(4):600–6.

144. Matthes F, Stroobants S, Gerlach D, Wohlenberg C, Wessig C, Fogh J, u. a. Efficacy of enzyme replacement therapy in an aggravated mouse model of metachromatic leukodystrophy declines with age. *Hum Mol Genet.* 1. Juni 2012;21(11):2599–609.
145. í Dali C, Groeschel S, Moldovan M, Farah MH, Krägeloh-Mann I, Wasilewski M, u. a. Intravenous arylsulfatase A in metachromatic leukodystrophy: a phase 1/2 study. *Ann Clin Transl Neurol.* 17. Dezember 2020;8(1):66–80.
146. Í Dali C, Sevin C, Krägeloh-Mann I, Giugliani R, Sakai N, Wu J, u. a. Safety of intrathecal delivery of recombinant human arylsulfatase A in children with metachromatic leukodystrophy: Results from a phase 1/2 clinical trial. *Mol Genet Metab.* Oktober 2020;131(1–2):235–44.
147. Barrette B, Nave KA, Edgar JM. Molecular triggers of neuroinflammation in mouse models of demyelinating diseases. *Biol Chem.* 1. Dezember 2013;394(12):1571–81.
148. Stein A, Stroobants S, Gieselmann V, D’Hooge R, Matzner U. Anti-inflammatory Therapy With Simvastatin Improves Neuroinflammation and CNS Function in a Mouse Model of Metachromatic Leukodystrophy. *Mol Ther.* 1. Juli 2015;23(7):1160–8.
149. Luzi P, Abraham RM, Rafi MA, Curtis M, Hooper DC, Wenger DA. Effects of treatments on inflammatory and apoptotic markers in the CNS of mice with globoid cell leukodystrophy. *Brain Res.* 1. Dezember 2009;1300:146–58.
150. Smith D, Wallom KL, Williams IM, Jeyakumar M, Platt FM. Beneficial effects of anti-inflammatory therapy in a mouse model of Niemann-Pick disease type C1. *Neurobiol Dis.* 1. November 2009;36(2):242–51.
151. Jeyakumar M, Smith DA, Williams IM, Borja MC, Neville DCA, Butters TD, u. a. NSAIDs increase survival in the Sandhoff disease mouse: Synergy with N-butyldeoxynojirimycin. *Ann Neurol.* 2004;56(5):642–9.
152. Feng FY, de Bono JS, Rubin MA, Knudsen KE. Chromatin to Clinic: The Molecular Rationale for PARP1 Inhibitor Function. *Mol Cell.* 18. Juni 2015;58(6):925–34.

153. Swindall AF, Stanley JA, Yang ES. PARP-1: Friend or Foe of DNA Damage and Repair in Tumorigenesis? *Cancers*. September 2013;5(3):943–58.
154. Mekhaeil M, Dev KK, Conroy MJ. Existing Evidence for the Repurposing of PARP-1 Inhibitors in Rare Demyelinating Diseases. *Cancers*. Januar 2022;14(3):687.
155. Thurairatnam S, Lim S, Barker RH, Choi-Sledeski YM, Hirth BH, Jiang J, u. a. Brain Penetrable Inhibitors of Ceramide Galactosyltransferase for the Treatment of Lysosomal Storage Disorders. *ACS Med Chem Lett*. 16. Juni 2020;11(10):2010–6.
156. Babcock MC, Mikulka CR, Wang B, Chandriani S, Chandra S, Xu Y, u. a. Substrate reduction therapy for Krabbe disease and metachromatic leukodystrophy using a novel ceramide galactosyltransferase inhibitor. *Sci Rep*. 14. Juli 2021;11(1):14486.
157. Cabanillas Stanchi KM, Böhringer J, Strölin M, Groeschel S, Lenglinger K, Treuner C, u. a. Hematopoietic Stem Cell Transplantation with Mesenchymal Stromal Cells in Children with Metachromatic Leukodystrophy. *Stem Cells Dev*. April 2022;31(7–8):163–75.
158. Spacil Z, Babu Kumar A, Liao HC, Auray-Blais C, Stark S, Suhr TR, u. a. Sulfatide Analysis by Mass Spectrometry for Screening of Metachromatic Leukodystrophy in Dried Blood and Urine Samples. *Clin Chem*. 1. Januar 2016;62(1):279–86.
159. Barcenas M, Suhr TR, Scott CR, Turecek F, Gelb MH. Quantification of Sulfatides in Dried Blood and Urine Spots From Metachromatic Leukodystrophy Patients by Liquid Chromatography/Electrospray Tandem Mass Spectrometry. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 10. Juni 2014;433:39–43.
160. Oliva P. A MLD newborn screening pilot-study for metachromatic leukodystrophy in Germany: Results of the first 12 months. *WORLDSymposium abstract, Poster #266; 2023*.
161. Horgan C, Watts K, Ram D, Rust S, Hutton R, Jones S, u. a. A retrospective cohort study of Libmeldy (atidarsagene autotemcel) for MLD: What we have accomplished and what opportunities lie ahead. *JIMD Rep*. 2023;64(5):346–52.

162. Hong X, Daiker J, Sadilek M, Ruiz-Schultz N, Kumar AB, Norcross S, u. a. Toward newborn screening of metachromatic leukodystrophy: results from analysis of over 27,000 newborn dried blood spots. *Genet Med.* 1. März 2021;23(3):555–61.
163. Kubaski F, Herbst ZM, Burin MG, Michelin-Tirelli K, Trapp FB, Gus R, u. a. Measurement of sulfatides in the amniotic fluid supernatant: A useful tool in the prenatal diagnosis of metachromatic leukodystrophy. *JIMD Rep.* 19. Januar 2022;63(2):162–7.
164. Burlina A, Jones SA, Chakrapani A, Church HJ, Heales S, Wu THY, u. a. A New Approach to Objectively Evaluate Inherited Metabolic Diseases for Inclusion on Newborn Screening Programmes. *Int J Neonatal Screen.* Juni 2022;8(2):25.
165. Jones SA, Cheillan D, Chakrapani A, Church HJ, Heales S, Wu THY, u. a. Application of a Novel Algorithm for Expanding Newborn Screening for Inherited Metabolic Disorders across Europe. *Int J Neonatal Screen.* März 2022;8(1):20.
166. Jonckheere AI, Kingma SDK, Eyskens F, Bordon V, Jansen AC. Metachromatic leukodystrophy: To screen or not to screen? *Eur J Paediatr Neurol.* 1. September 2023;46:1–7.

## 7 Erklärung zum Eigenanteil

Die vorliegende Dissertationsschrift wurde von mir, Judith Beschle, erstellt. Die Arbeit wurde an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen, Abteilung Kinderheilkunde III (Schwerpunkt: Neuropädiatrie, Entwicklungsneurologie und Sozialpädiatrie) unter Betreuung von Professorin Dr. med. Ingeborg Krägeloh-Mann und Professor Dr. med. Samuel Gröschel durchgeführt.

Die Konzeption und Durchführung der Studie erfolgte durch mich in Zusammenarbeit mit Professorin Dr. med. Ingeborg Krägeloh-Mann und Professor Dr. med. Samuel Gröschel. Die Erfassung der motorischen, neurokognitiven, hämatologischen, elektrophysiologischen und MRT Daten der transplantierten Kinder aus Arztbriefen und Befunden sowie die Analyse und klinische Interpretation jener wurden, nach Einarbeitung durch Professor Dr. med. Samuel Gröschel, von mir eigenhändig durchgeführt. Darüber hinaus war ich an der Datenerhebung beteiligt.

Professor Dr. med. Samuel Gröschel erhob die MLD MR Severity Scores und war an der Auswertung der Daten beteiligt. PD Dr. med. Benjamin Bender unterstützte bei der Erhebung der MRT-Daten und der klinischen Interpretation. Professorin Dr. med. Dipl. psych. Michaela Döring war an der Erhebung und Interpretation der hämatologischen Daten beteiligt. Dr. med. Christiane Kehrer stellte die klinischen Daten der nicht-transplantierten Kinder zur Verfügung und erhob zusammen mit Physiotherapeutin Christa Raabe die Daten zur motorischen Funktion, an deren Interpretation beide beteiligt waren. Dipl. psych. Ute Bayha führte die IQ-Messungen durch und war an der Interpretation jener beteiligt. Dr. rer. nat. dipl. biol. Judith Böhringer erhob die laborchemischen und genetischen Daten und war an deren Interpretation beteiligt. Professor Dr. med. Alexander Grimm erhob die elektrophysiologischen Daten und war an der Interpretation der Ergebnisse beteiligt.

Die statistische Auswertung erfolgte, nach Einarbeitung durch Professor Dr. med. Samuel Gröschel, eigenständig durch mich.

Ich versichere, das Manuskript selbstständig nach Anleitung durch Professorin Dr. med. Ingeborg Krägeloh-Mann und Professor Dr. med. Samuel Gröschel verfasst

zu haben und keine weiteren, als die von mir angegebenen Quellen, verwendet zu haben.

Die Publikation „Early clinical course after hematopoietic stem cell transplantation in children with juvenile metachromatic leukodystrophy“, veröffentlicht im Journal Molecular and Cellular Pediatrics, wurde hauptverantwortlich von mir, Judith Beschle, unter Unterstützung von Professorin Dr. med. Ingeborg Krägeloh-Mann und Professor Dr. Samuel Gröschel, verfasst. Alle Koautor\*innen der o.g. Publikation wirkten an der Erstellung und Revision des Manuskriptes mit.

---

Ort, Datum

---

Unterschrift Doktorandin

## 8 Liste der Veröffentlichungen

Teile der vorliegenden Dissertation wurden bereits in folgenden Publikationen veröffentlicht:

1. Judith Beschle, Michaela Döring, Christiane Kehrer, Christa Raabe, Ute Bayha, Manuel Strölin, Judith Böhringer, Andrea Bevot, Nadja Kaiser, Benjamin Bender, Peter Lang, Ingo Müller, Ingeborg Krägeloh-Mann and Samuel Groeschel (2020).  
“Early clinical course after hematopoietic stem cell transplantation in children with juvenile metachromatic leukodystrophy.” *Molecular and Cellular Pediatrics* 3. September 2020;7(1):12.
2. Lucas Bastian Amedick, Pascal Martin, Judith Beschle, Manuel Strölin, Marko Wilke, Nicole Wolf, Petra Pouwels, Gisela Hagberg, Uwe Klose, Thomas Naegele, Ingeborg Kraegeloh-Mann I and Samuel Groeschel (2023).  
“Clinical Significance of Diffusion Tensor Imaging in Metachromatic Leukodystrophy.” *Neuropediatrics*. 10. Mai 2023;54(4):244–52.

Die freundlichen Genehmigungen zur Wiederverwendung bereits publizierter Inhalte von Springer Nature und dem Georg Thieme Verlag KG liegen vor.

Zusätzlich habe ich einige der Ergebnisse 2017 auf der 43. Jahrestagung der Gesellschaft für Neuropädiatrie (GNP) innerhalb eines Vortrags vorgestellt. Die Ergebnisse wurden in *Neuropediatrics* veröffentlicht:

Judith Beschle, Samuel Groeschel, Christiane Kehrer, Manuel Strölin, Christa Raabe, Ute Bayha, Andrea Bevot, Manuela Döhring, Alexander Grimm, Benjamin Bender and Ingeborg Krägeloh Mann.

„Early Effects after Hematopoietic Stem Cell Transplantation in 13 Children with Juvenile Metachromatic Leukodystrophy.“ *Neuropediatrics* 48. 2017; S. OP08.

Ebenfalls 2017 habe ich einige der vorgelegten Ergebnisse beim 12. Kongress der European Pediatric Neurology Society (EPNS) als Vortrag unter dem Titel „Hematopoietic stem cell transplantation in juvenile metachromatic leukodystrophy – what does the early course tell about long term outcome?“ vorgestellt.

## 9 Danksagung

Diese Dissertation ist das Ziel einer langen Reise, auf der ich beeindruckende Personen und die faszinierende Welt der Forschung kennen lernen durfte, wofür ich mich an dieser Stelle von ganzem Herzen bedanken möchte.

Zuallererst möchte ich meinen Dank an all meine Patient\*innen und deren Familien richten, die mir einen Einblick in ihre Lebensrealität gewährleistet haben. Abseits der Datenerhebung durfte ich durch sie so viel nicht Messbares über das Leben lernen. Vor allem beeindruckte mich die Stärke der Kinder und mir wurde bewusst, dass Lebensqualität und Erfolg auch abseits gesellschaftlicher Normen existieren können und es so viel zu entdecken gibt, wenn man sich den Einzelnen zuwendet.

Mein besonderer Dank gilt Frau Krägeloh-Mann, dass ich bei ihr promovieren konnte, aber noch mehr, dass ich die Möglichkeit erhielt, sie ein wenig kennenzulernen. Neben ihrer beispiellosen fachlichen Expertise beeindruckte sie mich immer wieder durch ihre Menschlichkeit all den sie umgebenden Personen gegenüber, ganz gleich auf welcher Stufe der Hierarchie jene standen, ihre Neugier auf die Welt und, bei allem Erfolg, ihre Demut und Bescheidenheit. Sie wird mir für immer ein großes Vorbild sein.

Ein nicht minder großer Dank geht an Samuel Gröschel, der mich unglaublich geduldig über diese ganze Zeit betreut und begleitet hat und ohne den ich nie die beeindruckende Welt der Neuropädiatrie kennengelernt hätte. Sowohl fachlich als auch menschlich stand er mir stets zur Seite und die vielen Gespräche, auch abseits der Wissenschaft, werde ich wohl nie vergessen.

Von ganzem Herzen möchte ich mich bei der Kinderklinik Tübingen, aber vor allem beim Team der Neuropädiatrie bedanken. Dafür, dass sie mir ermöglicht haben, auf Kongressen im Namen der Kinderklinik Vorträge zu halten, dafür, dass sie mich, obwohl ich nicht klinisch tätig war, so in ihr Team aufgenommen haben, für das gemeinsame Singen für die erkrankten Kinder zu Weihnachten oder im Kinderklinikchor, für die gemeinsamen Abende bei den Kongressen oder Weihnachtsfeiern...die Liste könnte ewig so weitergehen.

Zu guter Letzt möchte ich mich bei meinen Eltern und Freund\*innen bedanken, die mich über all die Jahre unterstützt und an mich geglaubt haben. Ohne euch wäre das hier nie möglich gewesen.