

---

Aus der  
Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen  
Abteilung Kinderheilkunde III mit Poliklinik  
(Schwerpunkt: Neuropädiatrie, Allgemeinpädiatrie,  
Diabetologie, Endokrinologie, Sozialpädiatrie)

**MR-Spektroskopie bei metachromatischer  
Leukodystrophie**

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

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

**vorgelegt von**

**Feldmann, Joana Marie**

**2023**

---

Dekan: Professor Dr. B. Pichler  
1. Berichterstatter: Professor Dr. S. Gröschel  
2. Berichterstatter: Professor Dr. M. Giese

Tag der Disputation: 04.10.2023

---

Alle Status-, Funktions- und Berufsbezeichnungen, die in dieser Arbeit in ihrer männlichen Form erscheinen, betreffen gleichermaßen Frauen und Männer. Im Sinne des Gleichbehandlungsgesetzes sind diese Bezeichnungen als nicht geschlechtsspezifisch zu betrachten, sie können ebenso in der entsprechenden weiblichen Form verwendet werden

# **Inhaltsverzeichnis**

<b>ABBILDUNGS- UND TABELLENVERZEICHNIS .....</b>	<b>6</b>
<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....</b>	<b>8</b>
<b>1. EINLEITUNG.....</b>	<b>10</b>
<b>1.1. Metachromatische Leukodystrophie.....</b>	<b>10</b>
1.1.2. MLD-Formen.....	10
1.1.3. Pathomechanismus .....	10
1.1.3.1. Demyelinisierung.....	11
1.1.4. Diagnostik .....	11
1.1.5. Therapie.....	11
1.1.6. MRT .....	12
1.1.6.1. MR-Spektroskopie.....	12
1.1.7. Aktueller Forschungsstand .....	13
<b>1.2. Wissenschaftliche Fragestellung .....</b>	<b>14</b>
<b>2. METHODEN.....</b>	<b>16</b>
<b>2.1. Patientenkollektiv .....</b>	<b>16</b>
<b>2.2. Datenerhebung .....</b>	<b>17</b>
2.2.1. MRT .....	17
2.2.2. CSI.....	17
2.2.3. Messbereich .....	18
2.2.4. Kognitive Funktion .....	20
2.2.5. Motorische Funktion .....	21
<b>2.3. Datenauswertung .....</b>	<b>22</b>
<b>2.4. Statistische Auswertung .....</b>	<b>25</b>
<b>3. ERGEBNISSE.....</b>	<b>26</b>

<b>3.1. Unterschiede der MRS-Parameter zwischen MLD Patienten und Kontrollprobanden</b>	<b>29</b>
3.1.1. Kontrollprobanden vs. Patienten Messwerte der weißen Substanz .....	29
3.1.2. Unterschiede der MRS-Parameter zwischen den MLD-Formen und den Kontrollprobanden .....	37
3.1.3. Einfluss der motorischen Funktionen auf die MRS-Parameter .....	40
3.1.4. Einfluss kognitiver Funktionen auf MRS-Parameter .....	44
<b>4. DISKUSSION .....</b>	<b>48</b>
<b>4.1. Unterschiede zwischen MLD Patienten und Kontrollprobanden .....</b>	<b>48</b>
4.1.1. Zusammenhang von MRS-Parametern und der klinischen Präsentation von MLD ..	48
<b>4.2. Bedeutung einzelner Metabolite .....</b>	<b>49</b>
4.2.1. Myo-Inositol (4.09 - 4.01ppm).....	49
4.2.2. Cholin (3.24 - 3.16ppm).....	50
4.2.3. N-Acetyl-Aspartat (2.04 - 1.96ppm).....	50
4.2.4. Kreatin (3.94 - 3.87ppm).....	51
4.2.5. Glutamin (2.34 - 2.26ppm).....	52
<b>4.3. Unterschiede der MRS-Parameter nach Hirnregion .....</b>	<b>52</b>
4.3.1. Metabolitkonzentrationsunterschiede der weißen und der grauen Substanz .....	52
<b>4.4. Möglichkeiten und Grenzen der hier verwendeten Methodik .....</b>	<b>54</b>
4.4.1. MR-Spektroskopie als Untersuchungsmethode bei MLD Patienten .....	54
4.4.2. MRS-Parameter als Quotient des jeweiligen Metaboliten mit Kreatin.....	55
<b>4.5. Ausblick: NAA als sinnvoller klinischer Parameter und weitere Forschung .....</b>	<b>55</b>
<b>5. ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>57</b>
<b>6. LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>59</b>
<b>7. ERKLÄRUNG EIGENANTEIL .....</b>	<b>65</b>
<b>8 VERÖFFENTLICHUNGEN .....</b>	<b>66</b>
<b>9. DANKSAGUNG .....</b>	<b>67</b>

## Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

<b>Abb.1:</b> Messpunkt 1: am MRT ausgewählter Messbereich als Voxel frontal in der weißen Substanz der rechten Hemisphäre.....	19
<b>Abb.2:</b> Messpunkt 2: am MRT ausgewählter Messbereich als Voxel frontal in der weißen Substanz der linken Hemisphäre.....	19
<b>Abb.3:</b> Messpunkt 3: am MRT ausgewählter Messbereich als Voxel in der grauen Substanz als Referenzpunkt.....	19
<b>Abb.4:</b> Messpunkt 4: am MRT ausgewählter Messbereich als Voxel auf Höhe des kortikospinalen Trakts in der weißen Substanz der linken Hemisphäre.....	19
<b>Abb.5:</b> Messpunkt 5: am MRT ausgewählter Messbereich als Voxel auf Höhe des kortikospinalen Trakts in der weißen Substanz der rechten Hemisphäre.....	19
<b>Tabelle 1:</b> Skala zur objektiven Einschätzung motorischer Fähigkeiten die sog. “Gross Motor Function Classification in MLD” (angepasst und auf Deutsch übersetzt).....	21
<b>Abb.6:</b> Messbereiche der MR-Spektroskopie mit der jeweiligen Wellenlänge in parts per million (ppm) – dargestellt als Summenspektrum erstellt durch Matlab.....	23
<b>Abb.7:</b> Mittlere Kreatin-Konzentration (3.05-2.97 ppm) im Vergleich zwischen verschiedenen Messbedingungen.....	24
<b>Abb.8:</b> Boxplots, welche die mittlere Metabolitkonzentration von Kreatin (3.05-2.97 ppm) als Vergleich zwischen der weißen und der grauen Substanz darstellen.....	25
<b>Tabelle 2:</b> Ergebnisübersicht der Metabolitkonzentrationsunterschiede von MLD Patienten verglichen mit Kontrollprobanden:.....	27
<b>Tabelle 3:</b> Metabolitkonzentrationen von Myo-Ins, Cholin und NAA der weißen Substanz gemessen an Kontrollprobanden oder MLD Patienten.....	29
<b>Abb. 9:</b> Boxplots, welche einige Metabolitkonzentrationsunterschiede gemessen bei Kontrollprobanden oder MLD Patienten darstellen.....	30

<b>Abb. 11:</b> Boxplots, welche eine Übersicht der Metabolitkonzentrationen gemessen an MLD Patienten oder Kontrollprobanden in der weißen und grauen Substanz darstellen.....	32
<b>Abb. 12:</b> Boxplots, welche einige Metabolitkonzentrationen gemessen bei MLD Patienten oder Kontrollprobanden in der weißen und grauen Substanz darstellen.....	33
<b>Abb. 13:</b> Boxplots, welche mittlere N-Acetyl-Aspartat/Kreatin-Konzentrationen in der weißen Substanz im frontalen oder im kortikospinalen Trakt bei Kontrollprobanden gemessen wurden darstellen.....	34
<b>Abb. 14a + b:</b> Boxplots, welche NAA-Konzentrationen gemessene bei MLD Patienten oder Kontrollprobanden in jeweils der anterioren weißen Substanz und dem kortikospinalen Trakt darstellen.....	36
<b>Abb. 15:</b> Boxplots, welche einige Metabolitkonzentrationsunterschiede bei Kontrollprobanden oder spätinfantilen oder juvenilen MLD Patienten im Vergleich darstellen.....	38
<b>Abb. 16:</b> Boxplots, welche einige Metabolitkonzentrationsunterschiede bei Kontrollprobanden oder spätinfantilen oder juvenilen MLD Patienten im Vergleich darstellen.....	39
<b>Abb. 17:</b> Boxplots, welche einige Metabolitkonzentrationsunterschiede gemessen bei Kontrollprobanden oder motorisch schwach oder stark eingeschränkten MLD Patienten im Vergleich darstellen.....	41
<b>Abb. 18:</b> Boxplots, welche einige Metabolitkonzentrationsunterschiede gemessen bei Kontrollprobanden oder motorisch schwach oder stark eingeschränkten MLD Patienten im Vergleich darstellen.....	43
<b>Abb. 19:</b> Boxplots, welche einige Metabolitkonzentrationsunterschiede bei Kontrollprobanden oder kognitiv schwach (IQ>80) oder stark eingeschränkten (IQ<80) MLD Patienten im Vergleich darstellen.....	45
<b>Abb. 20:</b> Boxplots, welche einige Metabolitkonzentrationsunterschiede bei Kontrollprobanden oder kognitiv schwach (IQ>80) oder stark eingeschränkten (IQ<80) MLD Patienten im Vergleich darstellen.....	47

## Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ARSA	Arylsulfatase A Gen
Cho	Cholin
Cr	Kreatin
CSI	Chemical shift imaging
CST	Corticospinal tract = kortikospinaler Trakt
Gln	Glutamin und Glutamat
Glu	Glutamin
GM	Gray matter = graue Substanz
Lac	Laktat
MLD	Metachromatische Leukodystrophie
MRS	Magnetresonanztomographie / MR-Spektroskopie
MRT	Magnetresonanztomografie
MWU	Mann-Whitney-U Test
Myo-Ins	Inositol
NAA	N-Acetylaspartat
ppm	Parts per million
S.	Seitenzahl
SCT	Stammzelltransplantation
UKT	Universität-Klinikum Tübingen
Vs.	Versus
WM	White matter = weiße Substanz
WM_anterior	White matter = weiße Substanz, anteriorer Messpunkt





# 1. Einleitung

## 1.1. Metachromatische Leukodystrophie

Bei der Metachromatischen Leukodystrophie handelt es sich um eine seltene lysosomale Speicherkrankheit, bei der es durch den Mangel des Enzyms Arylsulfatase A zu einer Akkumulation von Sulfatid und durch die damit einhergehende Demyelinisierung zu einer Verschlechterung neurologischer Funktionen kommt<sup>1-3</sup>. MLD als metabolische Erkrankung kann je nach Sichtweise auf den zu Grunde liegenden Pathomechanismus den lysosomalen-, Lipid-Speicherkrankheiten oder den Leukodystrophien zugeordnet werden.

### 1.1.2. MLD-Formen

Abhängig vom Alter der Patienten zum Manifestationszeitpunkt erster Symptome wird die MLD in drei Formen unterteilt. Die spätinfantile MLD beginnt vor dem 30. Lebensmonat und zeigt den schwerwiegendsten Verlauf, welcher häufig bereits im Kindesalter tödlich endet<sup>4</sup>. Die juvenile MLD führt üblicherweise zwischen zweieinhalb Jahren und dem 16. Lebensjahr der Patienten zu den ersten Symptomen und hat eine bessere Prognose. Mit der Erkrankung leben können Patienten mit einer adulten Form der MLD die nach dem 16. Lebensjahr des Patienten beginnt<sup>3</sup>.

### 1.1.3. Pathomechanismus

Bei der MLD als autosomal-rezessive Sphingolipidose<sup>5</sup> führt eine Mutation im ARSA Gen zu einem Defekt der lysosomalen Arylsulfatase A<sup>6</sup>. Durch diese Dysfunktion akkumuliert 3-Sulfo-Galactocerebroside (Sulfatid)<sup>7</sup> unter anderem in den Myelinscheiden des zentralen und peripheren Nervensystems<sup>8,9</sup>. Dies führt zu einer Demyelinisierung<sup>10,11</sup> und im progressiven Verlauf der Erkrankung zur Hirnatrophie<sup>12,13</sup>. Die Symptomschwere und der Zeitpunkt des Krankheitsbeginns sind abhängig von der Ausprägung der Enzymdefizienz<sup>14</sup>.

Zugrundeliegende Mutationen im ASA-Gen<sup>15</sup> sind ausschlaggebend für das Fehlen eines funktionsfähigen Enzyms Arylsulfatase A oder einer Restaktivität des Enzyms. Träger homozygoter Mutationen weisen einen kompletten Enzymmangel auf, welcher mit einem frühen Symptombeginn assoziiert wird<sup>14,16–19</sup>.

#### **1.1.3.1. Demyelinisierung**

Physiologisch zersetzt die lysosomale Arylsulfatase A das vor allem in der Myelinschicht vorkommende Sulfatid enzymatisch.

Die Akkumulation des Sulfatids führt zur Demyelinisierung der Oligodendrozyten, Schwannzellen und Neuronen<sup>20</sup> und damit zur Atrophie der grauen Substanz im Gehirn<sup>13</sup>. Daraus folgen die sehr unterschiedlichen neurologischen Symptome wie kognitive Beeinträchtigungen, Psychosen<sup>16</sup>, der Verlust motorischer Fähigkeiten, Spastiken<sup>21</sup>, Ataxien, selten auch Krampfanfälle. Im Verlauf der MLD kann es bis zur Ausbildung eines apallischen Syndroms kommen<sup>21</sup>.

#### **1.1.4. Diagnostik**

Die MLD Diagnose erfolgt per Nachweis eines Enzymdefekts in den Leukozyten<sup>22</sup> oder Fibroblasten<sup>23</sup> und über eine Erhöhung der Sulfatidwerte im Urin<sup>20,24</sup>. Genetische<sup>25</sup> sowie MRT und MR-spektroskopische Untersuchungen können die Diagnose bestätigen<sup>26,27</sup>. Die Diagnosestellung erfolgt in den meisten Fällen erst nach dem Auftreten neurologischer Symptome, wenn die Schäden an den Myelinscheiden bereits fortgeschritten sind.

#### **1.1.5. Therapie**

Die derzeitige symptomatische Therapie kann bei juvenilen MLD Patienten durch eine hämatologische Stammzelltransplantation ergänzt werden<sup>20</sup>. Enzymersatz<sup>28</sup>- oder genetische<sup>12,29</sup> Therapieoptionen sind Schwerpunkt vieler aktueller Forschungsarbeiten.

Die häufig zur Diagnosestellung führenden Symptome werden durch irreparable Myelinschäden verursacht. Bisher konnte eine Therapie lediglich die Progredienz der Erkrankung beeinflussen. Neuerdings bietet jedoch eine frühzeitig eingesetzte Gentherapie eine kurative Therapieoption<sup>30</sup>.

#### **1.1.6. MRT**

Das Ausmaß der Demyelinisierung, die mit dem Krankheitsprogress einhergeht, korreliert mit dem Fortschreiten der Symptome von MLD<sup>27</sup>. Dieses lässt sich mit der MRT über die „demyelination load“ bestimmen<sup>13</sup>. In der MRT erscheint vor allem die frontale weiße Substanz deutlich stärker betroffen und zeigt ein MLD-typisches Muster mit hyperintensiven Signalveränderungen<sup>26,31</sup>. Spätinfantile MLD Patienten können zum Zeitpunkt der Diagnosestellung nach Gröschel et al. häufig eine unveränderte MRT aufweisen, welche im Verlauf Veränderungen in der zentralen parieto-occipitalen weißen Substanz aufweisen, gefolgt von zentralen Veränderungen der frontalen weißen Substanz und Auffälligkeiten vor allem des Spleniums des Corpus Callosum<sup>26</sup>.

Bei juvenilen MLD Patienten ist vorrangig die frontale weiße Substanz betroffen. Bereits vor dem Auftreten der ersten Symptome kann es zu deutlichen MRT-Veränderungen kommen.

Ein Spätstadium, welches sich vor allem durch eine zerebrale Atrophie auszeichnet, zeigt in der MRT eine Vergrößerung der inneren Ventrikel und im Verlauf auch der äußeren Liquorräume.

##### **1.1.6.1. MR-Spektroskopie**

Mit Hilfe der MRS lassen sich biochemische Veränderungen des Gehirns über die Quantifizierung von Stoffwechselprodukten, den sogenannten Metaboliten, bei MLD Patienten beschreiben<sup>32</sup>. Das sogenannte „Chemical Shift“ Verfahren (CSI) zeichnet sich durch die Messung der in der MR gemessenen Unterschiede in der Resonanz aus, woraus die Metabolitkonzentrationen errechnet werden können. Das hier verwendete erweiterte MRT-Protokoll besteht aus selektiv wechselnden Radiofrequenzpulsorientierten adiabatischen

Messungen der Echozeiten, welche eine sogenannte semi-LASER Sequenz ausmachen.

Die MRS eignet sich besonders um den Verlauf einer MLD Erkrankung über die regionalen Unterschiede der chemischen Zusammensetzung darzustellen und ergänzt die MRT als Diagnostik sinnvoll durch eine quantitative Darstellung der Stoffwechsellage. Während in der MRT strukturelle Veränderungen des gesamten Gehirns dargestellt werden können, zeichnet sich die MR-Spektroskopie durch die Möglichkeit von regional gemessenen Konzentrationen aus, welche Rückschlüsse auf den Pathomechanismus von MLD erlauben. Ausgewertet wurden die MR-Spektren nicht herkömmlich über ein Programm wie LC-Model, welches bekannte und vorbestimmte Metabolitkonzentrationen berechnet, sondern über ein speziell für diesen Zweck geschriebenes Datenauswertungsprogramm, welches eine freie Auswahl der Messbereiche ermöglicht.

#### **1.1.7. Aktueller Forschungsstand**

Beschrieben wurden Konzentrationsänderungen von Metaboliten (NAA, Cho, Cr, NAAG, Ins, Glu) im Krankheitsverlauf der MLD<sup>21,33-36</sup> vor und nach einer Therapie<sup>37</sup>, sowie im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden<sup>32,38</sup>. I Dali et al. fanden 2010 bei einer kleinen Gruppe von Kindern mit spät-infantiler MLD, dass eine Abnahme von N-Acetylaspartat bei MLD Patienten negativ mit dem Krankheitsprogress korreliert<sup>33</sup>. Anhand solcher Erkenntnisse lassen sich der Verlauf der MLD abschätzen und möglicherweise antizipieren. Ein Zusammenhang zwischen MR-spektroskopisch gemessenen Metabolitkonzentrationen und Symptomen von MLD Patienten im Verlauf wurden besonders mit der hier angewandten Methode noch nicht untersucht. Insbesondere die Veränderung kognitiver Fähigkeiten wurden bei MLD Patienten nicht tiefergehend betrachtet.

## 1.2. Wissenschaftliche Fragestellung

MLD kann sich als neurodegenerative Erkrankung unterschiedlich darstellen. Es können beispielsweise primär motorische Fähigkeiten abnehmen oder die Patienten können durch den Verlust kognitiver Fähigkeiten auffallen<sup>16</sup>. Je nach Befallsmuster der Demyelinisierungsprozesse kann sich die Erkrankung klinisch sehr unterschiedlich darstellen<sup>26</sup>.

Den Symptomen der MLD objektivierbare Parameter zuordnen zu können, um eine Messbarkeit und Antizipation des Krankheitsverlaufs zu ermöglichen ist das Ziel einiger Forschungsarbeiten<sup>13,27</sup>.

MRS-Parameter können dabei behilflich sein und ein biologisches Korrelat zum klinischen Bild darstellen. Ebenso ermöglichen MRS-Parameter eine bessere Vergleichbarkeit zwischen den Therapieoptionen und deren Erfolg. Hinsichtlich einer Therapieplanung würden biochemische Marker eine bessere Planbarkeit und demnach auch größere Therapieerfolge versprechen.

Um die Veränderungen im Gehirn von MLD Patienten zu analysieren eignet sich die MR-Spektroskopie, die nichtinvasiv Metabolite quantifiziert und somit einen sensiblen Parameter für die Demyelinisierung darstellt. I Dali et al. beschrieben 2010 wie die im MRS dargestellte Menge an NAA negativ mit den Abbau motorischer Fähigkeiten der MLD Patienten korreliert<sup>33</sup>. Andere Metabolitkonzentrationen im Krankheitsverlauf wurden von van Rappard et al. 2017 beschrieben<sup>11</sup>. Demnach nehmen die Konzentrationen von NAA und Glu beim Fortschreiten von MLD ab, während die Konzentrationen von Myo-Ins und Lac zunehmen.

Daher ist es von besonderem Interesse die Quantität relevanter Metabolite weitergehend zu untersuchen und einen statistischen Zusammenhang mit der Symptomatik darzustellen.

Es wird daran geforscht den Krankheitsverlauf von MLD mit Hilfe von bildgebenden Verfahren zu beschreiben und klare Parameter für das Ausmaß der Demyelinisierung zu definieren. Daraus ergeben sich folgende Fragen:

- *Wie unterscheiden sich MRS-Parameter von gesunden Kontrollprobanden im Vergleich zu spät-infantilen oder juvenilen MLD Patienten?*
- *Gibt es einen Zusammenhang zwischen MRS-Parametern als Indikator für Stoffwechselkonzentrationen und motorischer bzw. kognitiver Beeinträchtigung bei MLD Patienten?*

Daraus ergibt sich die zentrale Hypothese:

***Klinische Parameter spätinfantiler und juveniler MLD Patienten zeigen einen klaren Zusammenhang mit Metabolitkonzentrationsänderungen. Diese MR-spektroskopisch erhobenen Konzentrationen können durch eine neuartige Datenauswertungsmethode berechnet werden, die sich durch eine flexible Auswahl der Messbereiche auszeichnet.***

## 2. Methoden

### 2.1. Patientenkollektiv

Analog zu der Publikation Feldmann et al. 2023 entstammt das für die Datenerhebung gewählte Patientenkollektiv dem Deutschen Leukodystrophie Netzwerk LEUKONET<sup>39</sup>. Diese Datenbank enthält eine Übersicht über MLD Patienten, welche zu regelmäßigen Untersuchungen in die Universitätsklinik Tübingen (UKT) kommen. Am UKT zwischen 2013 und 2019 erhobene MR-Spektroskopie Messungen dienen als Grundlage dieser Auswertung. Diese Arbeit wurde vom Ethik-Komitee des Universitätsklinikums Tübingen genehmigt (Antragsnummer: 421/2021B01). Es wurde vor der Datenerhebung eine Einverständniserklärung von den Probanden oder zuständigen Erziehungsberechtigten unterschrieben.

Die Patienten waren im Mittel 14,8 Jahre alt mit einer Standardabweichung  $\pm$  von 8,7 Jahren. Es befanden sich 63,1% weibliche Patienten in dem Patientenkollektiv. Bei 26 der 44 Datensätzen juveniler MLD Patienten konnte ein Intelligenztest erhoben werden. Die durchschnittliche Intelligenz der juvenilen Patienten lag bei einem IQ von 68,23 mit einer Standardabweichung von 23,5 IQ Punkten. Es wurden an 30 MLD Patienten MR-Spektroskopie Messungen durchgeführt, wobei 11 davon mehrfach gemessen wurden. Insgesamt wurden 55 MR-Spektroskopie Datensätze gesammelt. Bei 10 Patienten wurde eine spätinfantile MLD diagnostiziert, deren Altersdurchschnitt 3,8 Jahre mit einer Standardabweichung von  $\pm$  1,2 Jahren betrug. Es wurden 19 Patienten mit der Diagnose juvenile MLD mit einem Durchschnittsalter von 16,7 Jahren und einer Standardabweichung von  $\pm$  7 Jahren eingeschlossen sowie ein Patient mit der adulten MLD Form (Symptombeginn im Alter von 31 Jahren und in der MRT bestätigte voll ausgeprägte Leukodystrophie), welcher der Gruppe der juvenilen MLD Patienten zugerechnet wurde (Mittelwert: 17,2 Jahre  $\pm$  7,7 Jahre), mit der Annahme, dass adulte und juvenile Patienten als Patienten mit spätem Erkrankungsbeginn ähnliche Verläufe haben können<sup>16</sup>.



Erhoben wurden außerdem die Daten von 12 gesunden Kontrollprobanden. Mit 9 weiblichen Teilnehmern (69,2%) ist der Anteil an Kontrollprobandinnen größer als der Anteil an männlichen Kontrollprobanden. Im Durchschnitt waren die Probanden 23,7 Jahre  $\pm$  13,3 Jahre) alt und die Intelligenz betrug im Mittel 110 IQ-Punkte  $\pm$  10,8 IQ-Punkte). Die Kontrollprobanden waren sowohl motorisch (GMFM 88)<sup>26</sup> als auch kognitiv (IQ-Wert) normal entwickelt. Bei einem der 12 Kontrollprobanden konnte keine Messung der motorischen Fähigkeiten mit Hilfe des „gross-motor-function-classification-measure“<sup>40,41</sup> oder GMFM 88 durchgeführt werden. Bei allen 11 anderen Probanden wurden im GMFM 88 100% erreicht. Bei 10 der 13 Datensätzen an Kontrollprobanden konnten Intelligenztests durchgeführt werden, deren Mittelwert 110 (+/- 10,84) IQ-Punkte betrug.

## **2.2. Datenerhebung**

### **2.2.1. MRT**

Die Messungen der MRS-Sequenzen wurden standardisiert an einem 3 Tesla MRT Gerät der Firma Siemens erhoben (Magnetom Skyra & Magnetom Prisma, Siemens Healthcare GmbH, Erlangen). Diese sind mit zwei Kanal Senderspulen ausgestattet sowie 32 Empfangskanälen.<sup>26</sup> Einem standardisierten Protokoll folgend wurden die Messungen im Universitätsklinikum Tübingen als Semi-LASER Sequenzen erhoben.

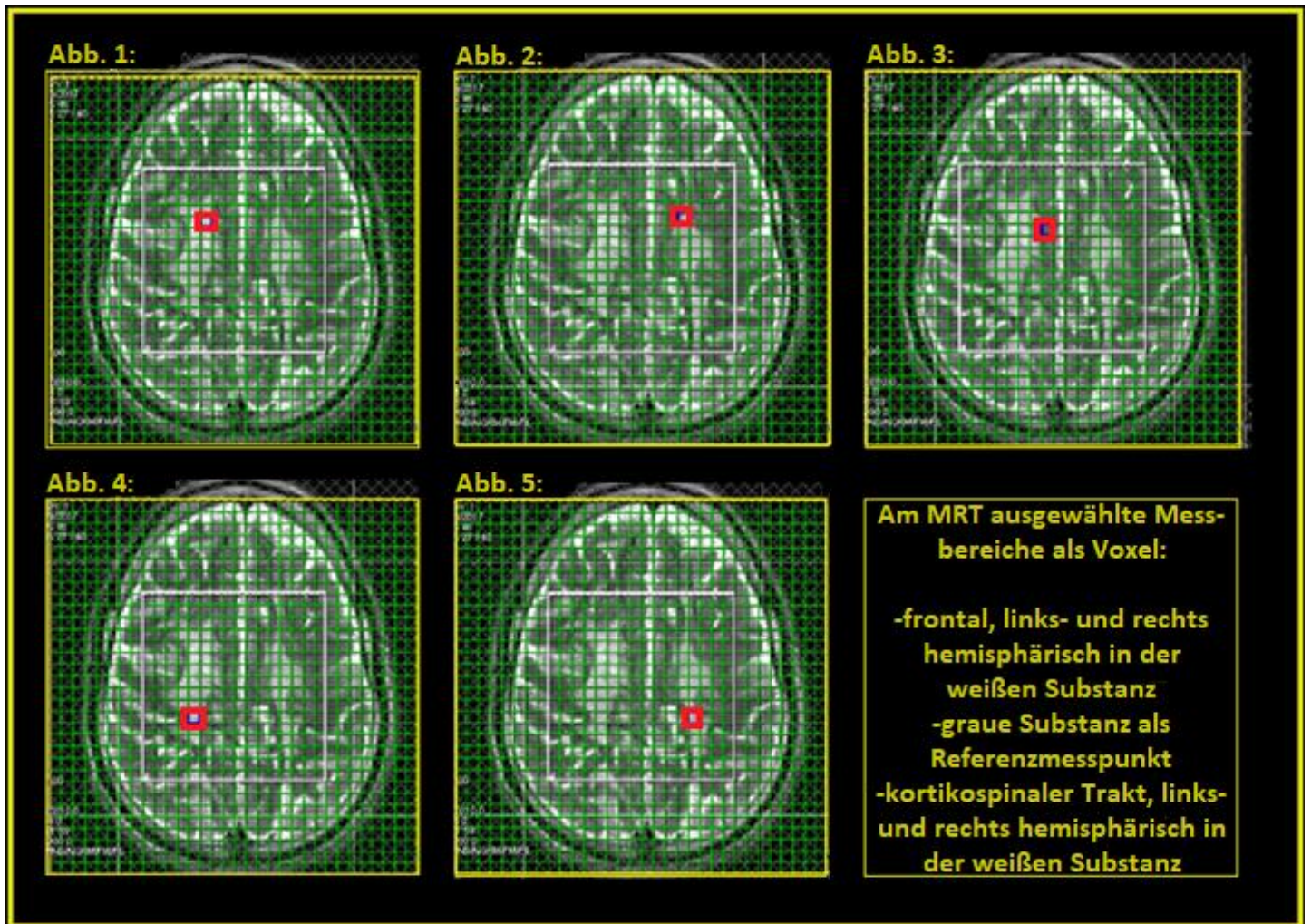
### **2.2.2. CSI**

Die CSI Messung in der MR-Spektroskopie bietet viele Vorteile gegenüber der Single Voxel Messung. Dadurch, dass bei dieser Technik eine gesamte Schicht der Zielregion gemessen wird, ist es retrospektiv möglich den Messbereich auszuwählen. Die erhobenen Spektroskopie Daten umfassen eine Schichtdicke von 12 mm, die eine Voxelgröße von 5x5x15 mm erlauben. Kranial der lateralen Ventrikel erfolgte die Datenerhebung der CSI Sequenzen mit einer Echozeit von TE (echo time) = 135 Millisekunden (ms), TR (repetition time) = 1600 ms, TA

(aquisition time) = 3:57 Minuten, FoV (field of view) = 160x160 mm<sup>2</sup>, mit einer Matrix von 12x12 die zu 32x32 interpoliert wurde.

### **2.2.3. Messbereich**

In jedem Datensatz wurden fünf Voxel aufgrund anatomischer Zuordnung ausgewählt. Die Auswahl erfolgte qualitätsorientiert anhand einer T1- oder T2-gewichteten MRT Aufnahme innerhalb der kranial der Ventrikel gelegenen Schicht auf Höhe des Centrum Semiovale in standardisierter AC-PC Kippung. Die Auswahl von vier der fünf Voxel erfolgte in der weißen Substanz in jeder Hemisphäre: jeweils zwei im anterioren Bereich und zwei auf Höhe des kortikospinalen Trakts (supraventrikulär, kaudal des sensomotorischen Kortex'). Ein zusätzlicher 5. Voxel als singulärer Referenzmesspunkt wurde in der grauen Substanz im Cortex mediolateral der Falx Cerebri gewählt.



**Abb.1:** Messpunkt 1: am MRT ausgewählter Messbereich als Voxel frontal in der weißen Substanz der rechten Hemisphäre

**Abb.2:** Messpunkt 2: am MRT ausgewählter Messbereich als Voxel frontal in der weißen Substanz der linken Hemisphäre

**Abb.3:** Messpunkt 3: am MRT ausgewählter Messbereich als Voxel in der grauen Substanz als Referenzpunkt

**Abb.4:** Messpunkt 4: am MRT ausgewählter Messbereich als Voxel auf Höhe des kortikospinalen Trakts in der weißen Substanz der linken Hemisphäre

**Abb.5:** Messpunkt 5: am MRT ausgewählter Messbereich als Voxel auf Höhe des kortikospinalen Trakts in der weißen Substanz der rechten Hemisphäre

#### **2.2.4. Kognitive Funktion**

Die kognitiven Fähigkeiten wurden mit Hilfe des Wechsler-Intelligenztests erhoben. Je nach Alter der Probanden wurde so der passende Test gewählt: WISC-V (Wechsler Intelligence Scale for Children) für Kinder zwischen sechs und 16 Lebensjahren oder WAIS-IV (Wechsler Adult Intelligence Scale) für Probanden über 16 Jahren. Die Patienten mit einer spätinfantilen MLD konnten daher keine kognitive Evaluation durch einen Intelligenztest bekommen. Daher konnten zum Zeitpunkt der Datenerhebung nur bei 19 Messungen ein IQ-Wert bestimmt werden. Acht MLD Patienten hatten 85 IQ-Punkte oder mehr im Intelligenztest und 34 MLD Patienten hatten weniger als 85 IQ-Punkte.

### 2.2.5. Motorische Funktion

Die motorischen Fähigkeiten des Studienkollektivs wurden objektiv mit Hilfe der GMFC-MLD Skala (Gross Motor Function Classification in MLD) evaluiert.

**Tabelle 1:** Skala zur objektiven Einschätzung motorischer Fähigkeiten die sog. "Gross Motor Function Classification in MLD"<sup>42</sup> (angepasst und auf Deutsch übersetzt)

<b>Gross Motor Function Classification in MLD (GMFC-MLD)</b> (anwendbar ab dem Alter von 18 Monaten)	
<i>C. Kehrer, G. Blumenstock, C. Raabe, I. Krägeloh-Mann: Dev. Med Child Neurol 2011 Feb;53(2):156-60.</i>	
<b>Stufe 0:</b>	Freies Gehen in altersentsprechend normaler Qualität.
<b>Stufe 1:</b>	Freies Gehen mit qualitativen Einschränkungen, z. B. Stand- und Gangunsicherheit.
<b>Stufe 2:</b>	Gehen mit Halt möglich. Freies Gehen nicht möglich (weniger als fünf Schritte).
<b>Stufe 3:</b>	Sowohl freies Sitzen als auch Fortbewegung in Bauchlage (z. B. Krabbeln, Rollen, Robben) sind möglich. Gehen weder frei noch mit Halt möglich.
<b>Stufe 4:</b>	(a) Freies Sitzen, aber keine Fortbewegung in Bauchlage (z. B. Krabbeln, Rollen, Robben). (b) Freies Sitzen ist nicht möglich, aber Fortbewegung in Bauchlage (z. B. Krabbeln, Rollen, Robben).
<b>Stufe 5:</b>	Weder Fortbewegung in Bauchlage noch freies Sitzen möglich. Die Kopfkontrolle ist erhalten.
<b>Stufe 6:</b>	Verlust jeglicher Fortbewegung sowie Verlust von Kopf- und Rumpfkontrolle.

(modifiziert nach Kehrer et al. 2011)

### **2.3. Datenauswertung**

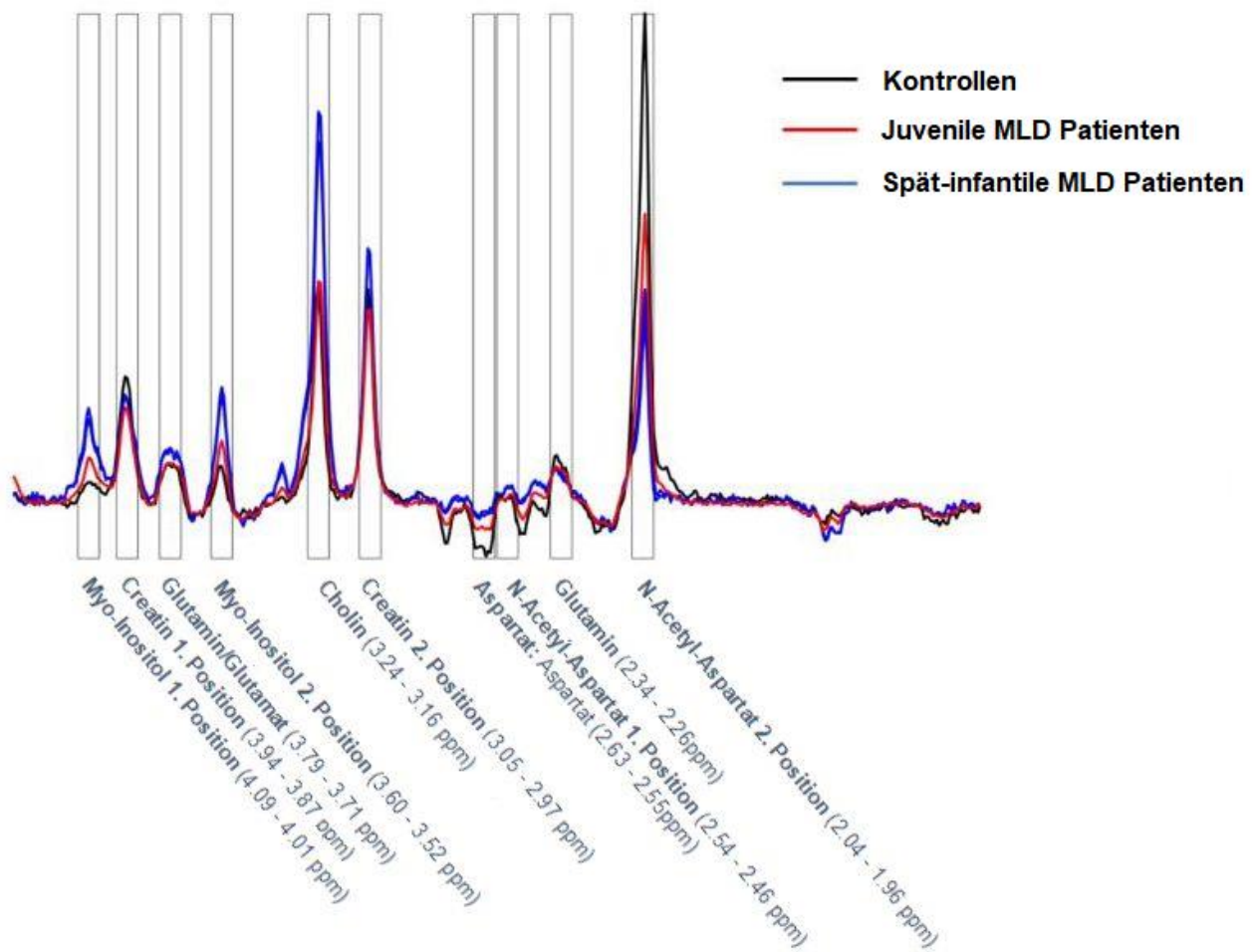
Für die Errechnung der Metabolitkonzentration erfolgte zuerst eine Aufsummierung der MR-Spektroskopie Daten beider Hemisphären. Da bei MLD keine Seitenpräferenz im Pathomechanismus bekannt ist, wurden für die Berechnung der Summenspektren die Messdaten beider Hemisphären zusammengefasst. Die zwei in der weißen Substanz anterior gelegenen Messpunkte eines jeden Datensatzes wurden zusammengefasst und ebenso die zwei Messpunkte auf Höhe des kortikospinalen Traktes.

Die Summenspektren wurden anschließend in zehn Messintervalle eingeteilt, von denen jedes einen sogenannten Peak (lokales Maximum) einfasst und den Frequenzbereich mit einer Größe von jeweils acht parts per million (ppm) abdeckt. Jeder Messbereich wurde nach dem jeweiligen Metaboliten benannt, dessen Wellenlänge in dem entsprechenden Intervall eingeschlossen wurde. Die Zuordnung der Wellenlängen zu dem jeweiligen Metaboliten erfolgte nach den Referenzwerten des Programms LC-Model.

Die Berechnung der jeweiligen Metabolitkonzentration erfolgte auf Grundlage der Erstellung von Summenspektren durch Erhebung der Integrale der jeweiligen Messintervalle.

Die hier verwendete Datenauswertung ohne herkömmliche MR-Spektroskopie Auswertungsprogramme bietet eine neuartige Möglichkeit der Datenverarbeitung. Im Gegensatz zu einem vollautomatisierten Programm wie LC-Model ermöglicht diese Art der Datenerhebung mehr Flexibilität in der Auswahl der Messbereiche. LC-Model berechnet die Metabolitkonzentrationen auf der Grundlage von vorbestimmten Messbereichen.

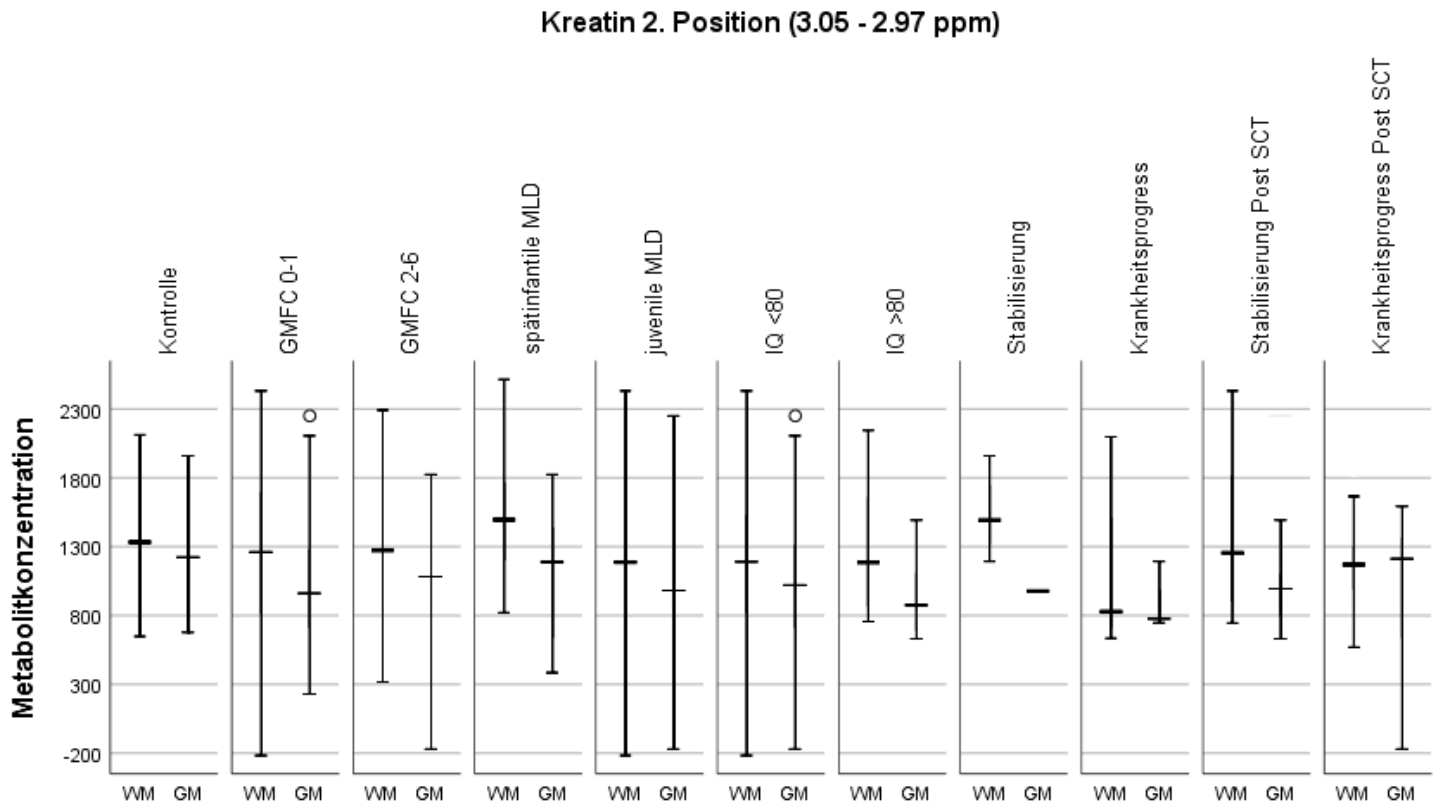
Die Methode, flexibel bestimmbare Messbereiche zu berechnen, wurde in dieser Form erstmalig angewendet. Die Grundidee dabei war, bisher unbekannte Ausprägungen MR-Spektroskopischer Datensätze genauer beschreiben und quantifizieren zu können.



**Abb.6:** Messbereiche der MR-Spektroskopie mit der jeweiligen Wellenlänge in parts per million (ppm) – dargestellt als Summenspektrum erstellt durch Matlab<sup>39</sup>

Zur Normierung wurde vor einer statistischen Auswertung der Quotient der jeweiligen Metabolitkonzentration und der Konzentration des Messbereichs 2,97-3,05 ppm, welcher dem Metabolit Kreatin zuzuordnen ist, berechnet. Eine Quotientenbildung mit Kreatin eignet sich um eine bessere interindividuelle Vergleichbarkeit zu gewährleisten und ist eine übliche Vorgehensweise in der MR-Spektroskopie.<sup>33,39,43</sup> Zudem erwies sich Kreatin als geeigneter Dividend,

da er die stabilste Metabolitkonzentration darstellte und keine signifikanten Unterschiede (Kruskal-Wallis Test  $p=0,43$ ) zwischen den Gruppen zeigte.



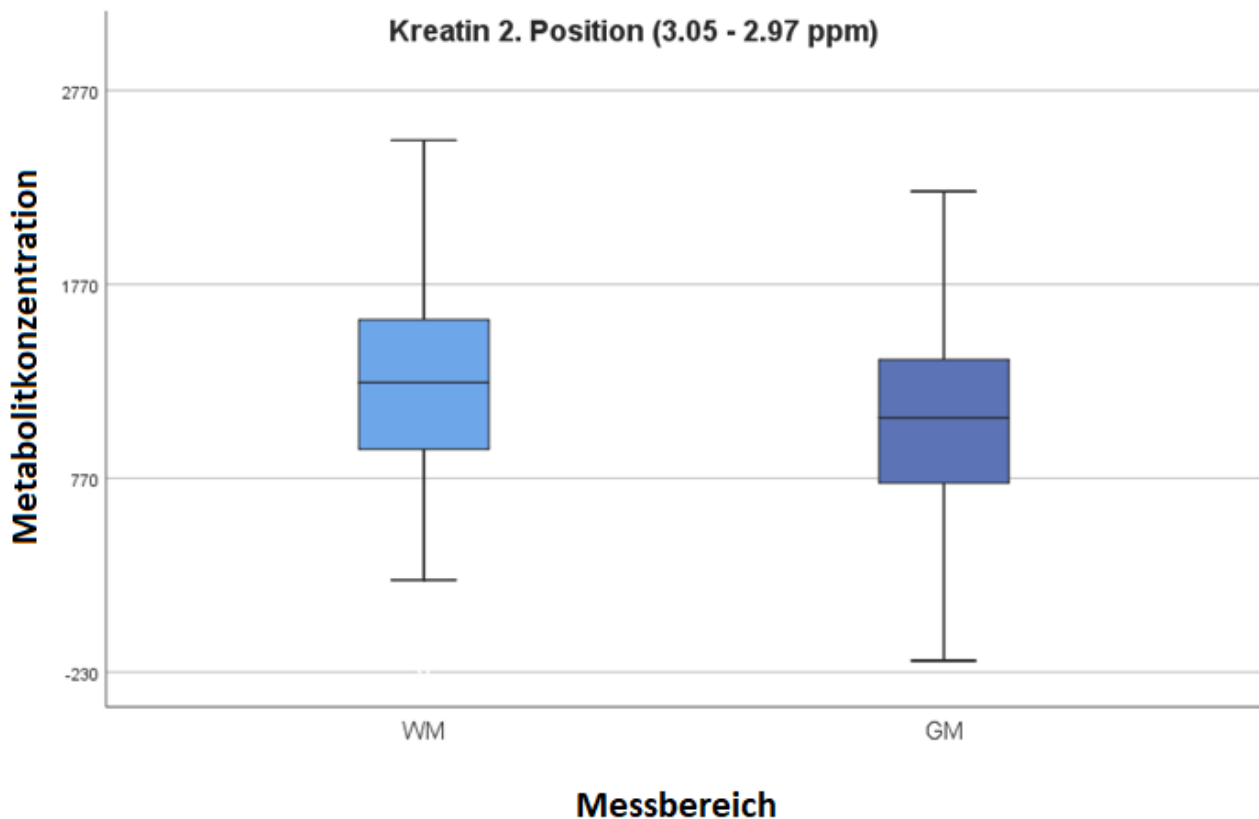
**Abb.7:** Mittlere Kreatin-Konzentration (3.05-2.97 ppm) im Vergleich zwischen verschiedenen Messbedingungen

**Kontrollprobanden:**

**WM** = white matter – Messereich in der weißen Substanz

**GM** = gray matter – Messereich in der grauen Substanz





**Abb.8:** Boxplots, welche die mittlere Metabolitkonzentration von Kreatin (3.05-2.97 ppm) als Vergleich zwischen der weißen und der grauen Substanz darstellen

**WM** = white matter – Messereich in der weißen Substanz

**GM** = gray matter – Messereich in der grauen Substanz

Im weiteren Verlauf wird mit jeder genannten Metabolitkonzentration dieser hier beschriebene Quotient mit Kreatin bezeichnet.

## 2.4. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der erhobenen Daten erfolgte mit IBM SPSS Statistics 26. Die Unterschiede der Metabolitkonzentrationen wurden über die verschiedenen Gruppeneinteilungen mit dem Mann-Whitney-U-Test verglichen. Die Gruppen sind klein und die Daten nicht normal verteilt, weshalb ein Vergleich mit den zugeordneten Rängen des Whitney-U-Tests erfolgte. Das Signifikanzniveau wurde auf  $p < 0.05$  festgelegt.

### 3. Ergebnisse

Feldmann et al. 2023 zeigten, dass sich die Metabolitkonzentrationen der MLD Patienten signifikant von denen der Kontrollprobanden unterscheiden<sup>39</sup>. Die Auflistung der Ergebnisse ist in der Tabelle 2 dargestellt.

Dabei wies vor allem die weiße Substanz starke Abweichungen auf. MLD Patienten zeigten signifikant höhere Myo-Inositol-, sowie Cholin-Konzentrationen gegenüber den Kontrollprobanden, jedoch erniedrigte Kreatin-, NAA-, und Glutamin-Konzentrationen.

Im Folgenden wird auf einzelne Metabolitkonzentrationen genauer Bezug genommen

**Tabelle 2:** Ergebnisübersicht der Metabolitkonzentrationsunterschiede von MLD Patienten verglichen mit Kontrollprobanden:

		<b>Metabolite:</b>															
		<b>Myo-Ins</b>			<b>Cr</b>			<b>Cho</b>			<b>Glu</b>			<b>NAA</b>			
		$\bar{x}$ =	SD=	p=	$\bar{x}$ =	SD=	p=	$\bar{x}$ =	SD=	p=	$\bar{x}$ =	SD=	p=	$\bar{x}$ =	SD=	p=	
<b>Kontrollprobanden vs. Patienten</b>	<b>WM</b>	0,19	0,07	0,000	0,77	0,06	0,000	1,15	0,16	0,000	0,37	0,75	0,000	2,23	0,22	0,000	
		0,37	0,36		0,63	0,23		1,32	0,35		0,3	0,24		1,25	0,46		
	<b>GM</b>	0,14	0,13	0,033	0,79	0,06	0,006	1,17	0,14	0,078	0,41	0,07	0,081	1,72	0,39	0,000	
		3,07	15,25		0,67	0,24		1,06	0,29		0,34	0,14		1,15	0,49		
<b>MLD-Form WM</b>	<b>Kontrollprobanden vs. spätinfantile MLD</b>	0,19	0,07	0,000	0,77	0,06	0,000	1,15	0,16	0,000	0,37	0,75	0,000	2,23	0,22	0,000	
		0,44	0,12		0,59	0,07		1,66	0,33		0,23	0,07		0,7	0,25		
	<b>Kontrollprobanden vs. juvenile MLD</b>	0,19	0,07	0,000	0,77	0,06	0,000	1,15	0,16	0,061	0,37	0,75	0,001	2,23	0,22	0,000	
		0,36	0,4		0,64	0,26		1,25	0,32		0,31	0,26		1,36	0,41		
	<b>Spätinfantile vs. juvenile MLD</b>	0,44	0,12	0,000	0,59	0,07	0,007	1,66	0,33	0,000	0,23	0,07	0,000	0,7	0,25	0,000	
		0,36	0,4		0,64	0,26		1,25	0,32		0,31	0,26		1,36	0,41		
	<b>Motorische Fähigkeiten CST</b>	<b>Kontrollprobanden vs. GMFC 0-1</b>	0,19	0,07	0,000	0,77	0,06	0,000	1,15	0,16	0,001	0,37	0,75	0,302	2,23	0,22	0,000
			0,34	0,17		0,65	0,1		1,19	0,24		0,31	0,08		1,56	0,29	
<b>Kontrollprobanden vs. GMFC 2-6</b>		0,19	0,07	0,000	0,77	0,06	0,000	1,15	0,16	0,000	0,37	0,75	0,001	2,23	0,22	0,000	
		0,35	0,24		0,57	0,18		1,37	0,38		0,22	0,29		1,04	0,4		
<b>GMFC 0-1 vs. GMFC 2-6</b>		0,34	0,17	0,259	0,34	0,17	0,001	1,19	0,24	0,009	0,31	0,08	0,002	1,56	0,29	0,000	
		0,35	0,24		0,57	0,18		1,37	0,38		0,22	0,29		1,04	0,4		
<b>Kognitive Fähigkeiten WM ANT</b>	<b>Kontrollprobanden vs. IQ&lt;80</b>	0,19	0,07	0,000	0,77	0,06	0,000	1,15	0,16	0,058	0,37	0,75	0,000	2,23	0,22	0,000	
		0,47	0,61		0,69	0,38		1,36	0,43		0,34	0,33		1,27	0,51		
	<b>Kontrollprobanden vs. IQ&gt;80</b>	0,19	0,07	0,000	0,77	0,06	0,000	1,15	0,16	0,101	0,37	0,75	0,069	2,23	0,22	0,000	
		0,30	0,09		0,64	0,09		1,18	0,10		0,39	0,05		1,51	0,32		
	<b>IQ&lt;80 vs. IQ&gt;80</b>	0,47	0,61	0,065	0,69	0,38	0,565	1,36	0,43	0,051	0,34	0,33	0,010	1,27	0,51	0,001	
		0,30	0,09		0,64	0,09		1,18	0,10		0,39	0,05		1,51	0,32		

$\bar{x}$ = arithmetisches Mittel; SD= standard deviation/Standardabweichung; p= exakte Signifikanz (2-seitig)

Auflistung der Mittelwert als arithmetisches Mittel der Konzentrationen der Metabolite, und deren Standardabweichung, sowie das statistische, zweiseitige

Signifikanzniveau „p“ von Myo-Inositol (als Quotient von Myo-Inositol (4.09 - 4.01ppm) /Kreatin (3.05-2.97 ppm)),

Kreatin (als Quotient Kreatin (3.94 - 3.87ppm) /Kreatin (3.05 - 2.97ppm),

Cholin (als Quotient Cholin (3.24 - 3.16 ppm) /Kreatin (3.05 - 2.97ppm),

Glutamin (als Quotient Glutamin (2.34 - 2.26ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

sowie N-Acetyl-Aspartat (als Quotient NAA (2.04 - 1.96ppm) /Kreatin (3.05 - 2.97ppm) in den Kategorien

Kontrollprobanden (in *blau*) im Vergleich zu MLD Patienten (in *rot*),

MLD-Form: Vergleich von Kontrollprobanden zu spätinfantilen MLD Patienten (in *grün*) zu juvenilen MLD Patienten (in *Hellbraun*),

Einteilung nach motorischen Fähigkeiten in MLD Patienten mit einem GMFC-

MLD Score von 0-1 (in *gelb*); also motorisch schwer eingeschränkten MLD

Patienten im Vergleich zu MLD Patienten mit einem GMFC-MLD Score von 2-6

(in *orange*); motorisch leicht eingeschränkten MLD Patienten im Vergleich zu

motorisch unauffälligen Kontrollprobanden(in *blau*), Messpunkt hierbei war im kortikospinalen Trakt,

Einteilung nach kognitiven Fähigkeiten der MLD Patienten in Patienten mit

einem IQ der unter 80 (in *lila*), oder einem IQ von über 80 (in *hellblau*),

Messpunkt hierbei war in der anterioren weißen Substanz.

### 3.1. Unterschiede der MRS-Parameter zwischen MLD Patienten und Kontrollprobanden

#### 3.1.1. Kontrollprobanden vs. Patienten Messwerte der weißen Substanz

Myo-Inositol- und Cholin-Konzentration waren bei den Patienten im Mittel signifikant höher ( $p < 0,0001$ ), während die NAA-Konzentration im Mittel signifikant niedriger ( $p < 0,0001$ ) war.

**Tabelle 3:** Metabolitkonzentrationen von Myo-Ins, Cholin und NAA der weißen Substanz gemessen an Kontrollprobanden oder MLD Patienten

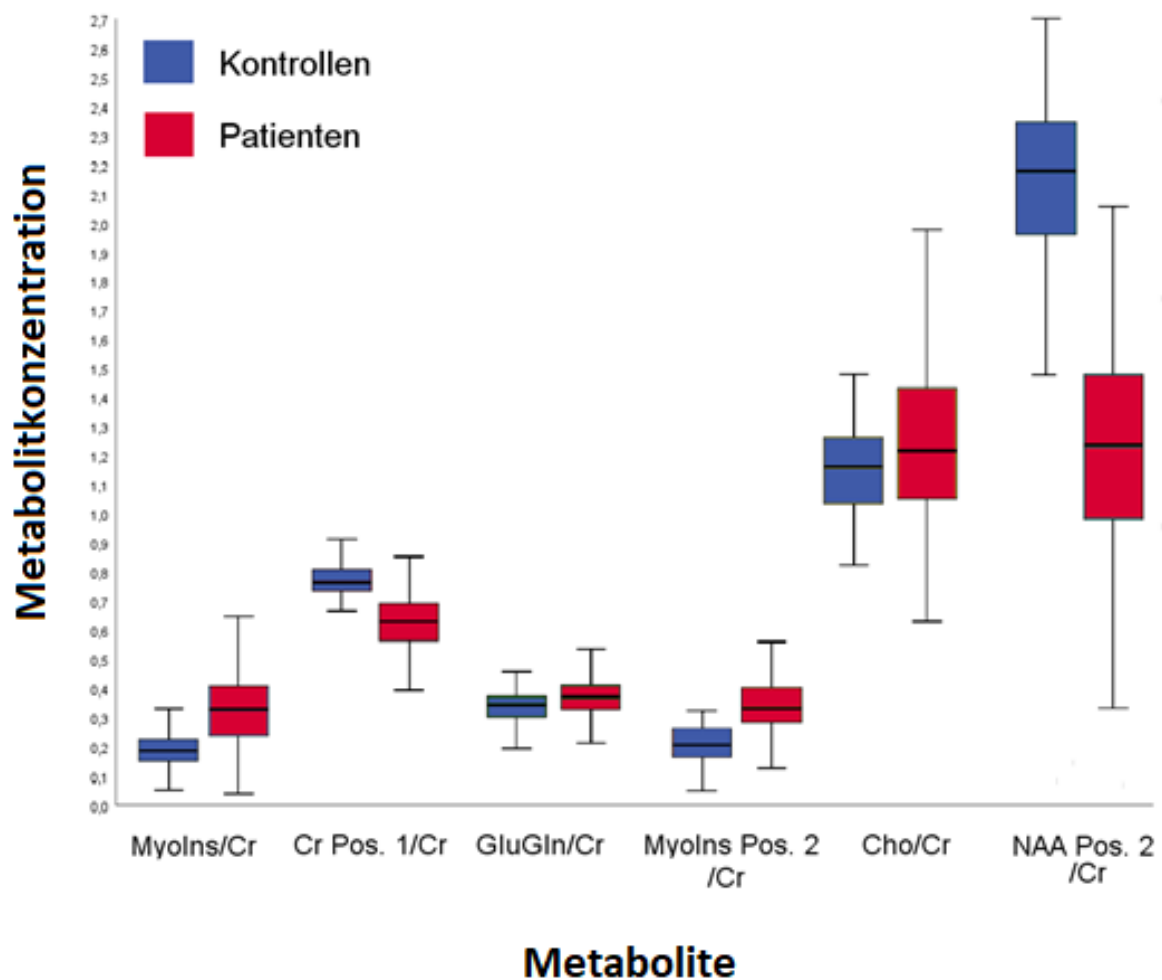
Mittlere Metabolitkonzentrationen in der weißen Substanz:			
	Kontrollprobanden*	MLD Patienten*	p
<b>Myo-Ins</b>	0,19	0,37	< 0,000
<b>Cho</b>	1,15	1,32	< 0,000
<b>NAA</b>	2,23	1,25	< 0,000

\*arithmetische Mittel

**Myo-Ins/Cr:** Konzentration von Myo-Inositol (4.09 - 4.01ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

**Cho/Cr:** Konzentration von Cholin (3.24 - 3.16ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

**NAA/Cr:** Konzentration von N-Acetyl-Aspartat (2.04 - 1.96ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)



**Abb. 9:** Boxplots, welche einige Metabolitkonzentrationsunterschiede gemessen bei Kontrollprobanden oder MLD Patienten darstellen

**Myo-Ins/Cr:** mittlere Konzentration von Myo-Inositol (4.09 - 4.01ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

**Cr Pos. 1/Cr Pos. 2:** mittlere Konzentration von Kreatin (3.94 - 3.87ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

**Glu/Gln:** mittlere Konzentration von Glutamin und Glutamat (3.79 - 3.71ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

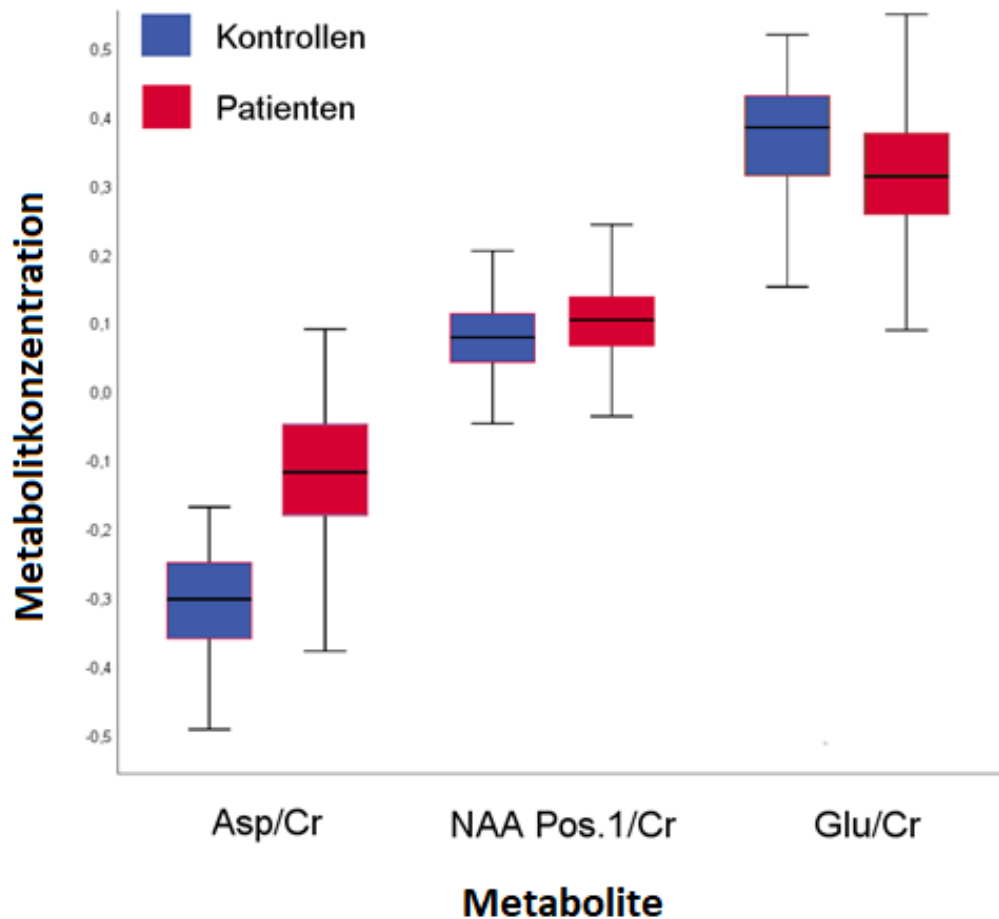
**Myo-Ins Pos. 2/Cr:** mittlere Konzentration von Myo-Inositol (3.60 - 3.52ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

**Cho/Cr:** mittlere Konzentration von Cholin (3.24 - 3.16ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

**NAA Pos. 2/Cr:** mittlere Konzentration von N-Acetyl-Aspartat (2.04 - 1.96ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

Die Boxplot-Diagramme stellen die jeweiligen mittleren Metabolitkonzentrationen der weißen Substanz sowie die signifikanten

( $p < 0,043$ ) Unterschiede dieser zwischen der Kontrollgruppe und den Patienten dar.



**Abb. 10:** Boxplots, welche einige Metabolitkonzentrationsunterschiede gemessen bei Kontrollprobanden oder MLD Patienten darstellen

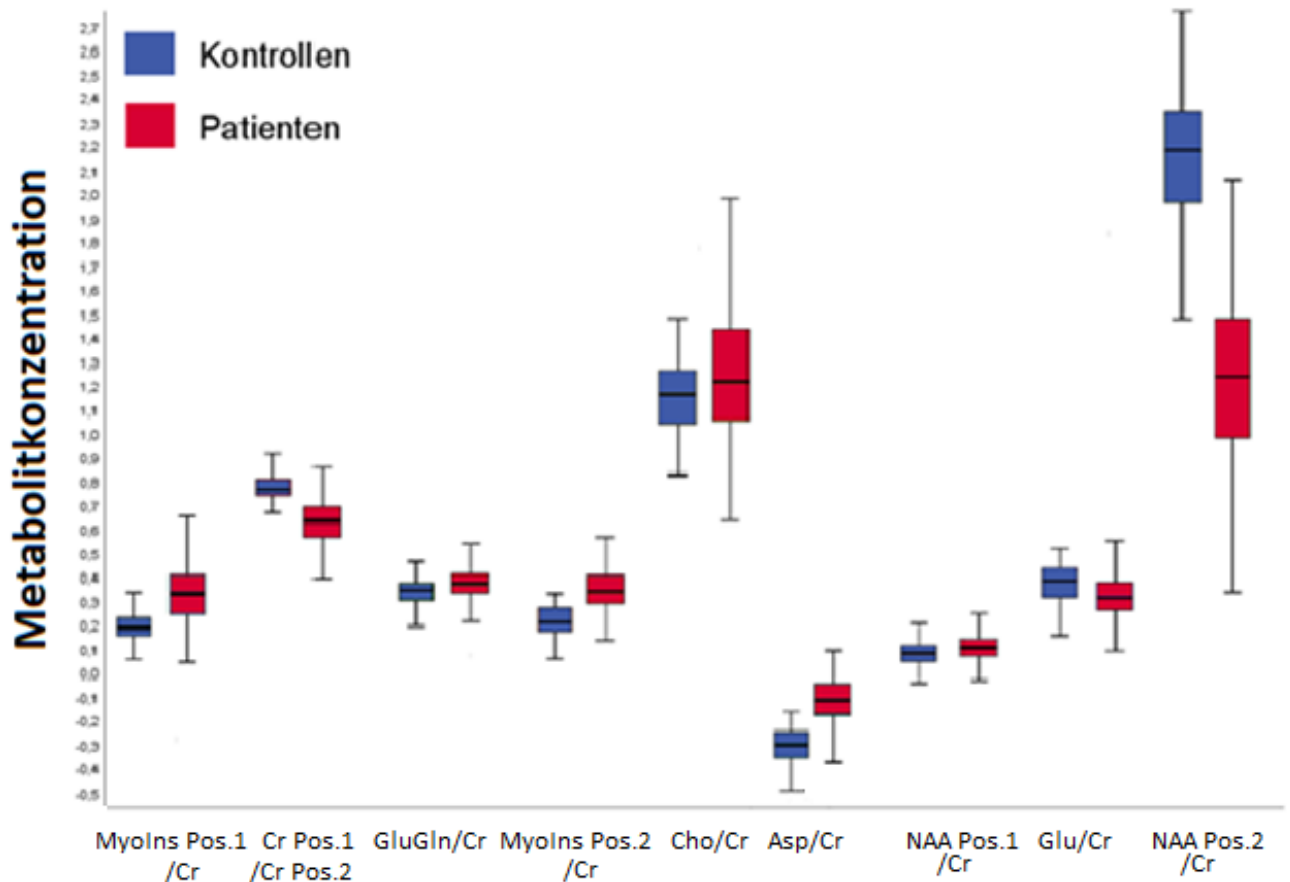
**Asp/Cr:** mittlere Konzentration von Aspartat (2.63 - 2.55ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

**NAA Pos. 1/Cr:** mittlere Konzentration von N-Acetyl-Aspartat (2.54 - 2.46ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

**Glu/Cr:** mittlere Konzentration von Glutamin (2.34 - 2.26ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

Das Boxplotdiagramm stellt die mittleren Metabolitkonzentrationen der weißen Substanz gemessen an MLD Patienten dar. Die mittlere Aspartat Konzentration, sowie die Glutamin Konzentration ist bei den Patienten signifikant niedriger ( $p < 0,0001$ ) als bei den Kontrollprobanden. Die mittlere N-Acetyl-Aspartat

Konzentration ist bei den Patienten signifikant niedriger ( $p=0,022$ ) als bei den Kontrollprobanden.



## Metabolite

**Abb. 11:** Boxplots, welche eine Übersicht der Metabolitkonzentrationen gemessen an MLD Patienten oder Kontrollprobanden in der weißen und grauen Substanz darstellen

**Myo-Ins Pos. 1/Cr:** mittlere Konzentration von Myo-Inositol (4.09 - 4.01ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

**Cr Pos. 1/Cr Pos. 2:** mittlere Konzentration von Kreatin (3.94 - 3.87ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

**Glu/Gln:** mittlere Konzentration von Glutamin und Glutamat (3.79 - 3.71ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

**Myo-Ins Pos. 2/Cr:** mittlere Konzentration von Myo-Inositol (3.60 - 3.52ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

**Cho/Cr:** mittlere Konzentration von Cholin (3.24 - 3.16ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

**Asp/Cr:** mittlere Konzentration von Aspartat (2.63 - 2.55ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

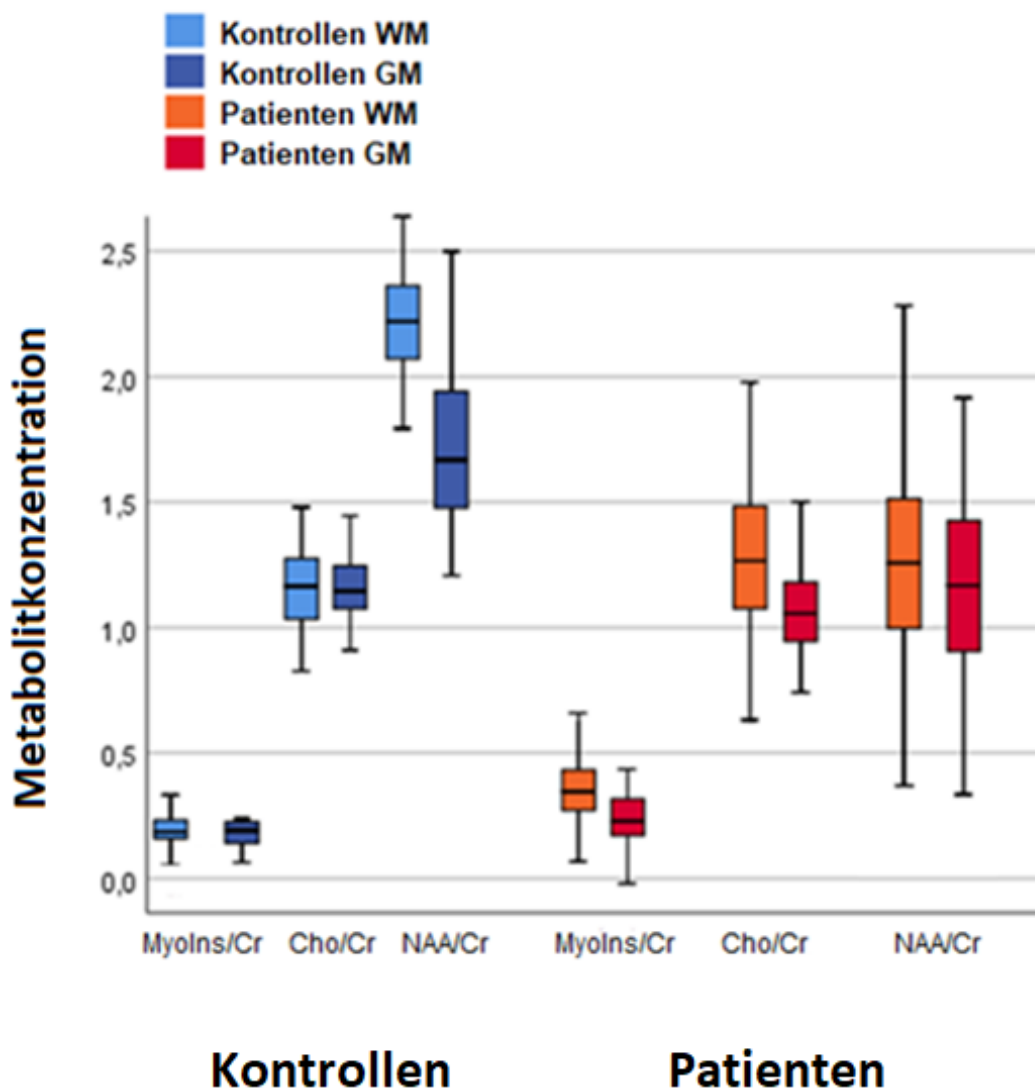
**NAA Pos. 1/Cr:** mittlere Konzentration von N-Acetyl-Aspartat (2.54 - 2.46ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

**Glu/Cr:** mittlere Konzentration von Glutamin (2.34 - 2.26ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

**NAA Pos. 2/Cr:** mittlere Konzentration von N-Acetyl-Aspartat (2.04 - 1.96ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)



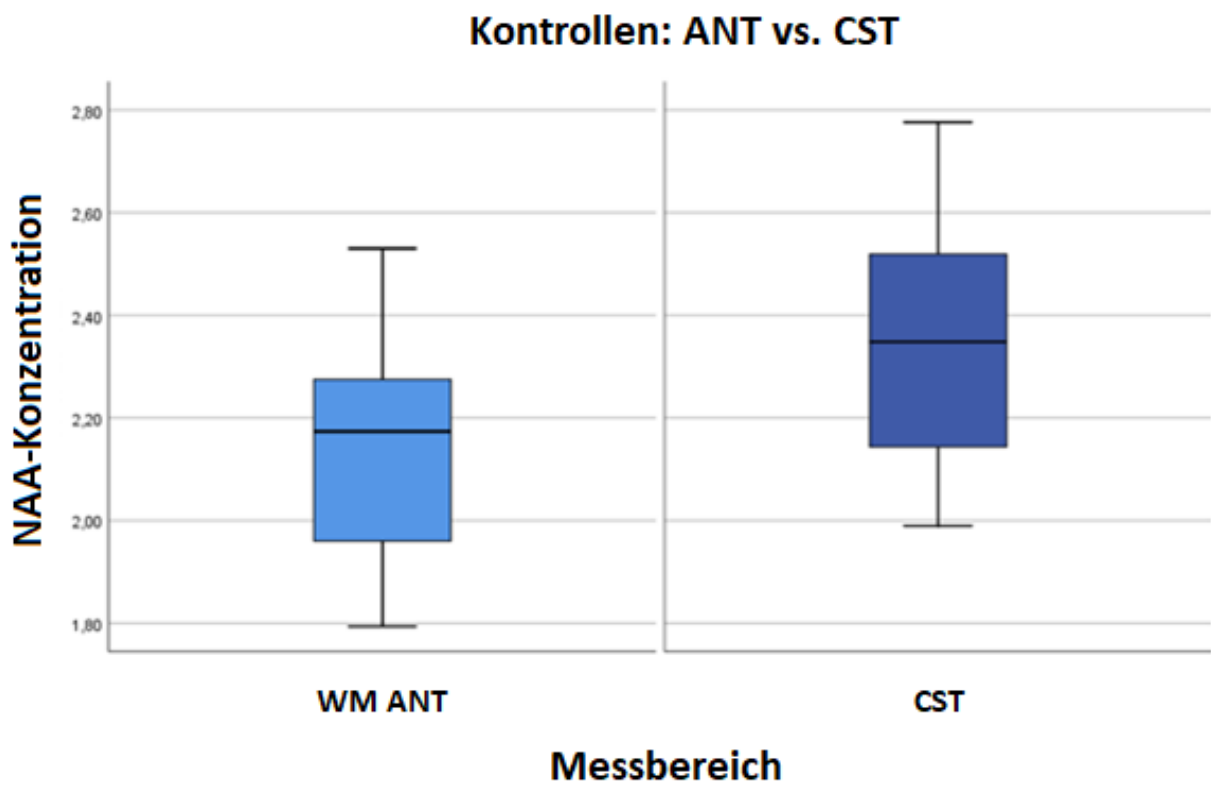
Boxplotdiagramm als Übersichtsdarstellung relevanter Metabolitkonzentrationen gemessen in der weißen Substanz von MLD Patienten im Vergleich zu Messungen an Kontrollprobanden.



**Abb. 12:** Boxplots, welche einige Metabolitkonzentrationen gemessen bei MLD Patienten oder Kontrollprobanden in der weißen und grauen Substanz darstellen

**Myo-Ins/Cr:** mittlere Konzentration von Myo-Inositol (4.09 - 4.01ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)  
**Cho/Cr:** mittlere Konzentration von Cholin (3.24 - 3.16ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)  
**NAA/Cr:** mittlere Konzentration von N-Acetyl-Aspartat (2.04 - 1.96ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

Die Abbildung zeigt die Unterschiede der mittleren Metabolitkonzentrationen der weißen und der grauen Substanz. Bei den Kontrollprobanden fehlt der signifikante Unterschied der Myo-Ins und Cho-Konzentration zwischen der weißen und grauen Substanz. Es lässt sich jedoch eine signifikant höhere NAA-Konzentration in der weißen Substanz der Kontrollprobanden feststellen. Dieser Unterschied wird anhand der nächsten Abbildung genauer erkennbar. Gegensätzlich dazu zeigen sich bei den Patienten signifikante Unterschiede von Myo-Ins- und Cho-Konzentrationen zwischen der weißen und der grauen Substanz ( $p < 0,0001$ ). Die Patienten weisen im Gegensatz zu den Kontrollprobanden keinen signifikanten Unterschied in der NAA-Konzentration zwischen der weißen und grauen Substanz auf ( $p = 0,174$ ).



**Abb. 13:** Boxplots, welche mittlere N-Acetyl-Aspartat/Kreatin-Konzentrationen in der weißen Substanz im frontalen oder im kortikospinalen Trakt bei Kontrollprobanden gemessen wurden darstellen

**ANT** = Messbereich in der anterioren weißen Substanz

**CST** = Messbereich auf Höhe des kortikospinalen Traktes in der weißen Substanz

Zum genaueren Verständnis der signifikant höheren NAA-Konzentrationen bei den Kontrollprobanden in der weißen Substanz muss berücksichtigt werden, dass die erhöhten NAA-Werte der weißen Substanz sich vor allem durch die erhöhte Konzentration im kortikospinalen Trakt (CST=2,35; WM\_anterior=2,17;  $p < 0,0001$ ) erklären lassen. Insgesamt konnten in der weißen Substanz von Kontrollprobanden höhere NAA-Werte gemessen werden als in der grauen Substanz (WM\_gesamt=2,23; GM=1,75;  $p < 0,0001$ ).

Bei MLD Patienten hingegen konnten im kortikospinalen Trakt niedrigere NAA-Konzentrationen (CST=1,33) gemessen werden als bei Kontrollprobanden. Die im kortikospinalen Trakt gemessenen NAA-Werte waren dennoch höher als die an einem anterioren Messpunkt erhobenen Werte in der weißen Substanz von MLD Patienten (WM\_anterior=1,17;  $p = 0,004$ ).

Abb. 14a:

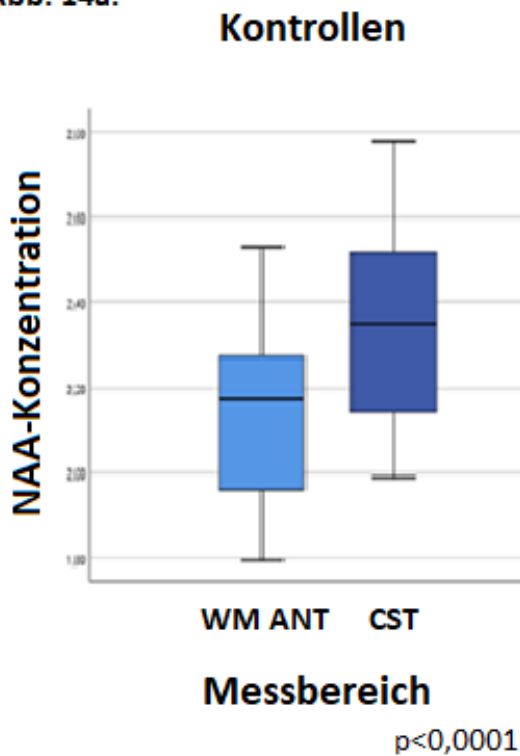
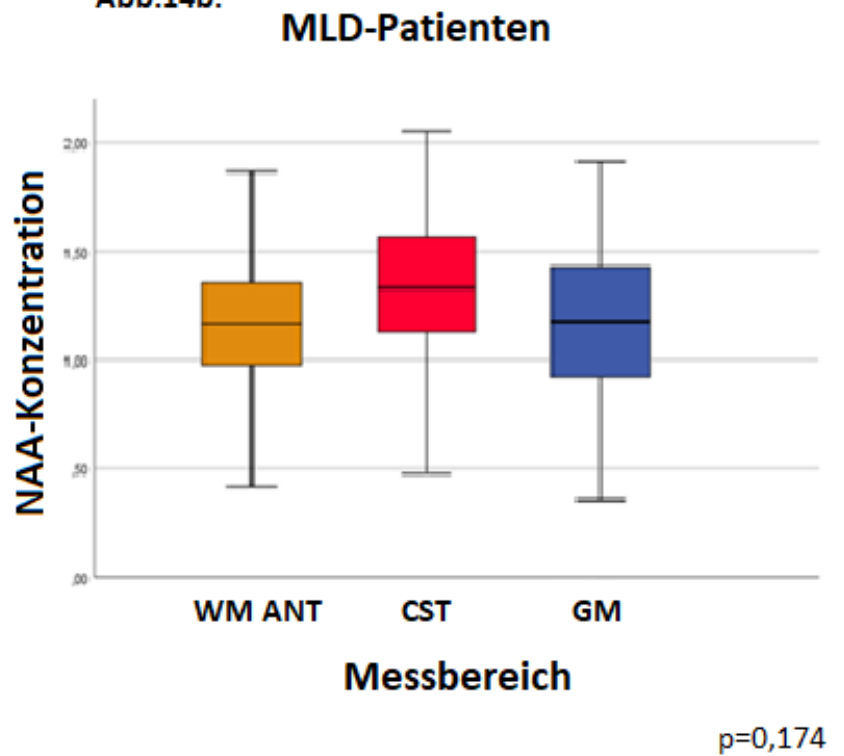


Abb.14b:



**Abb. 14a + b:** Boxplots, welche NAA-Konzentrationen gemessene bei MLD Patienten oder Kontrollprobanden in jeweils der anterioren weißen Substanz und dem kortikospinalen Trakt darstellen

**Abb. 14b:** Bei den Patienten ein zusätzlicher Vergleich der NAA-Konzentrationen mit Messwerten der grauen Substanz.

**NAA/Cr:** Konzentration von N-Acetyl-Aspartat (2.04 -1.96ppm) / Kreatin (3.05 -2.97ppm)

**ANT** = Messbereich in der anterioren weißen Substanz

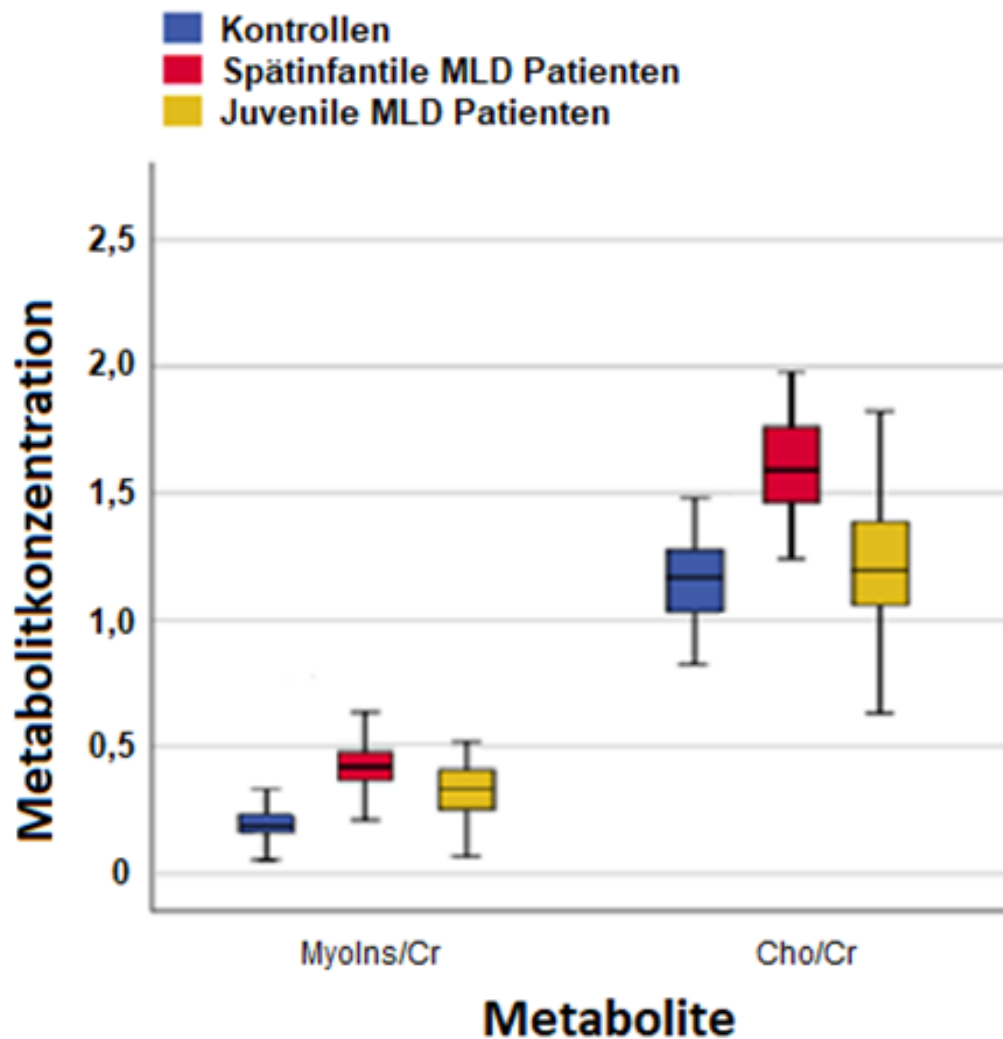
**CST** = Messbereich auf Höhe des kortikospinalen Traktes (CST) in der weißen Substanz

**GM** = gray matter – Messbereich in der grauen Substanz

### **3.1.2. Unterschiede der MRS-Parameter zwischen den MLD-Formen und den Kontrollprobanden**

Die in der weißen Substanz erhobenen Metabolitkonzentrationen von Myo-Ins, Cho und NAA unterscheiden sich bei den Patienten mit juveniler MLD im Mittel von denen der Kontrollprobanden ( $p < 0,0001$ ). Die mittleren Metabolitkonzentrationen der spätinfantilen MLD Patienten unterscheiden sich signifikant stärker von den Kontrollprobanden als die der Patienten mit spätinfantiler MLD ( $p < 0,0001$ ). Demnach scheint die Abweichung von den mittleren Metabolitkonzentrationen der Kontrollprobanden umso ausgeprägter, je stärker die Patienten betroffen sind.

Cholin als Marker für membranöse Umbauprozesse fällt bei der spätinfantilen MLD signifikant höher aus als bei den Kontrollprobanden. Bei den Patienten mit juveniler MLD ist der Unterschied des Cholin Peaks zu den Kontrollprobanden mit  $p = 0,061$  nicht signifikant jedoch der Unterschied zu den Probanden mit spätinfantiler MLD ( $p < 0,0001$ ).

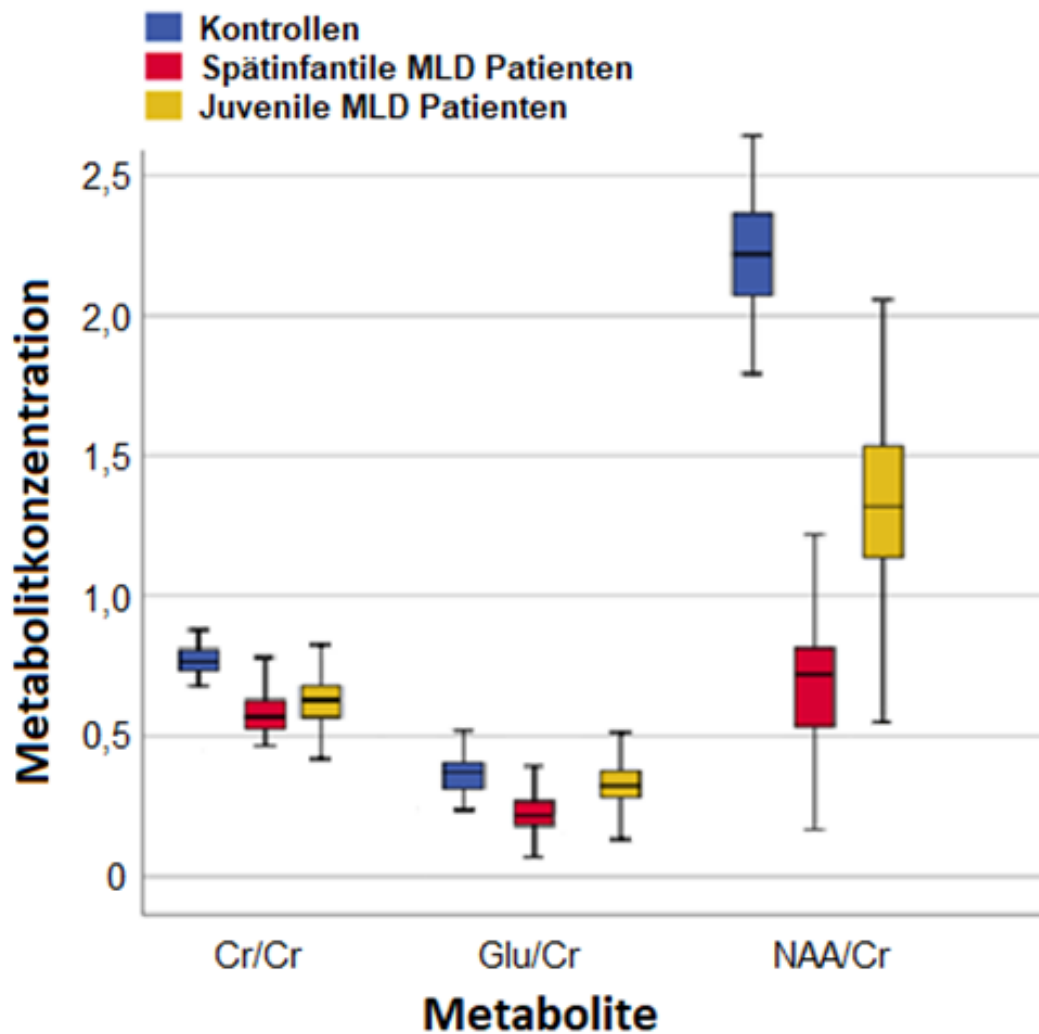


**Abb. 15:** Boxplots, welche einige Metabolitkonzentrationsunterschiede bei Kontrollprobanden oder spätinfantilen oder juvenilen MLD Patienten im Vergleich darstellen

**Myo-Ins/Cr:** mittlere Konzentration von Myo-Inositol (4.09 - 4.01ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

**Cho/Cr:** mittlere Konzentration von Cholin (3.24 - 3.16ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

**NAA/Cr:** mittlere Konzentration von N-Acetyl-Aspartat (2.04 - 1.96ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)



**Abb. 16:** Boxplots, welche einige Metabolitkonzentrationsunterschiede bei Kontrollprobanden oder spätinfantilen oder juvenilen MLD Patienten im Vergleich darstellen

**Cr/Cr:** mittlere Konzentration von Kreatin (3.94 - 3.87ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

**Glu/Cr:** mittlere Konzentration von Glutamin (2.34 - 2.26ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

**NAA/Cr:** mittlere Konzentration von N-Acetyl-Aspartat (2.04 - 1.96ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

Die mittleren Konzentrationen von Kreatin, Glutamin und NAA sind im Vergleich zu den Kontrollprobanden bei Patienten mit spätinfantiler MLD signifikant stärker erniedrigt als bei Patienten mit juveniler MLD ( $p < 0,007$ ).

### 3.1.3. Einfluss der motorischen Funktionen auf die MRS-Parameter

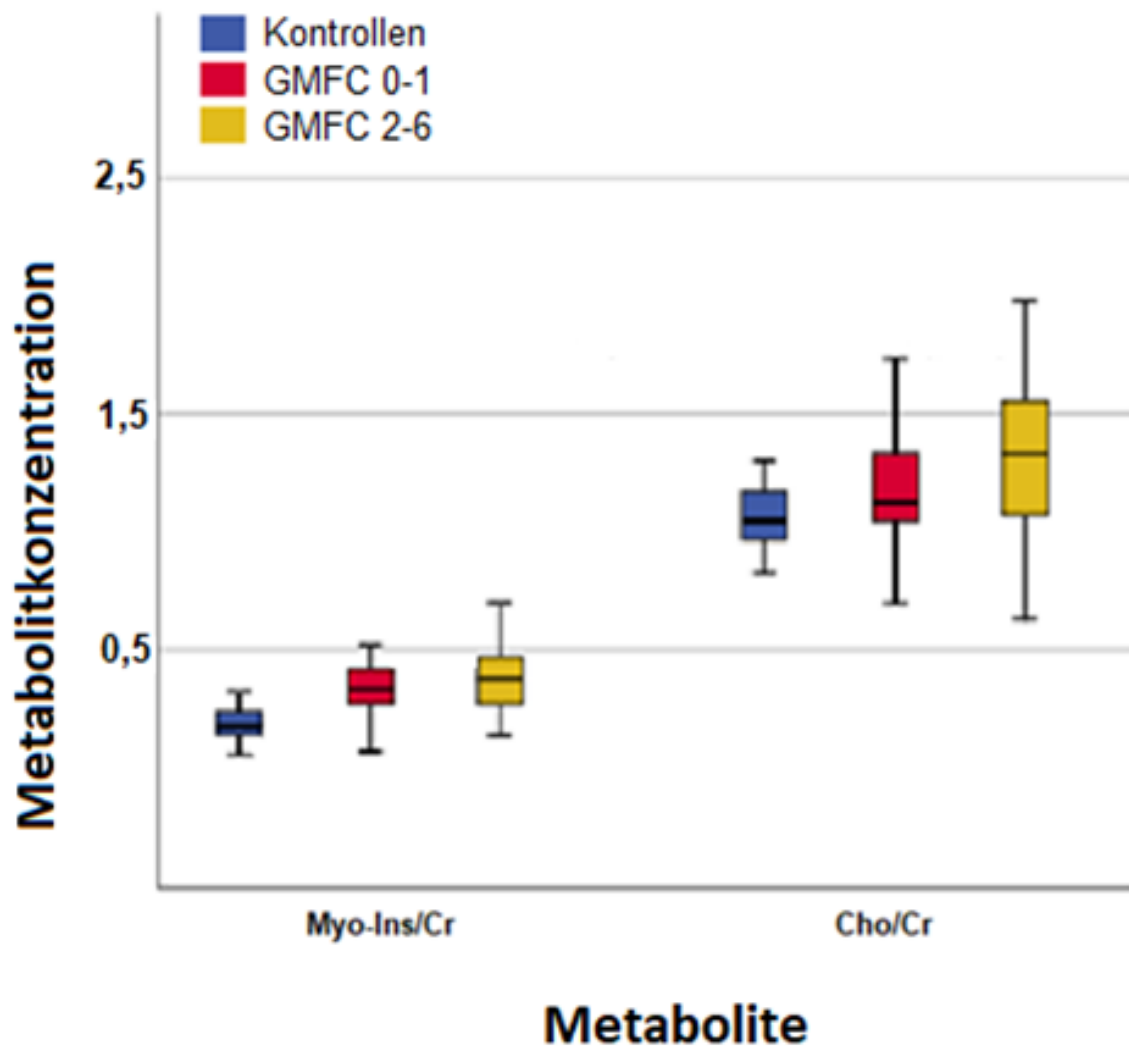
*Messwerte des kortikospinalen Trakts der weißen Substanz:*

Die mittlere Myo-Ins-Konzentration in der weißen Substanz der motorisch leicht betroffenen Patienten mit einem GMFC von 0-1 liegt signifikant über jener der Kontrollprobanden ( $p < 0,0001$ ) und darüber befindet sich der Myo-Ins Messwert der motorisch schwer betroffenen Patienten mit einem GMFC von 2-6 signifikant gegenüber den beiden anderen genannten Gruppen erhöht ( $p < 0,0001$ ).

Bei den Cholin Messwerten ist die gleiche Tendenz zu beobachten, wobei der im Mittel leicht erhöhte Cho-Wert der motorisch leicht betroffenen Patienten sich nicht signifikant von dem der Kontrollprobanden unterscheidet ( $p = 0,134$ ). Der Cho-Messwert der motorisch schwer betroffenen Patienten liegt jedoch im Mittel signifikant über dem der motorisch leicht betroffenen Patienten ( $p < 0,0001$ ) und deutlich signifikant über dem der Kontrollprobanden ( $p < 0,0001$ ).

NAA ist im Mittel jedoch bei den motorisch leicht betroffenen Patienten gering und bei den motorisch schwer betroffenen Patienten stärker erniedrigt im Vergleich zu den Kontrollprobanden ( $p < 0,0001$ ).





**Abb. 17:** Boxplots, welche einige Metabolitkonzentrationsunterschiede gemessen bei Kontrollprobanden oder motorisch schwach oder stark eingeschränkten MLD Patienten im Vergleich darstellen

**GMFC (Gross Motor Function Classification in MLD) 0-1** = motorisch leicht eingeschränkte MLD Patienten

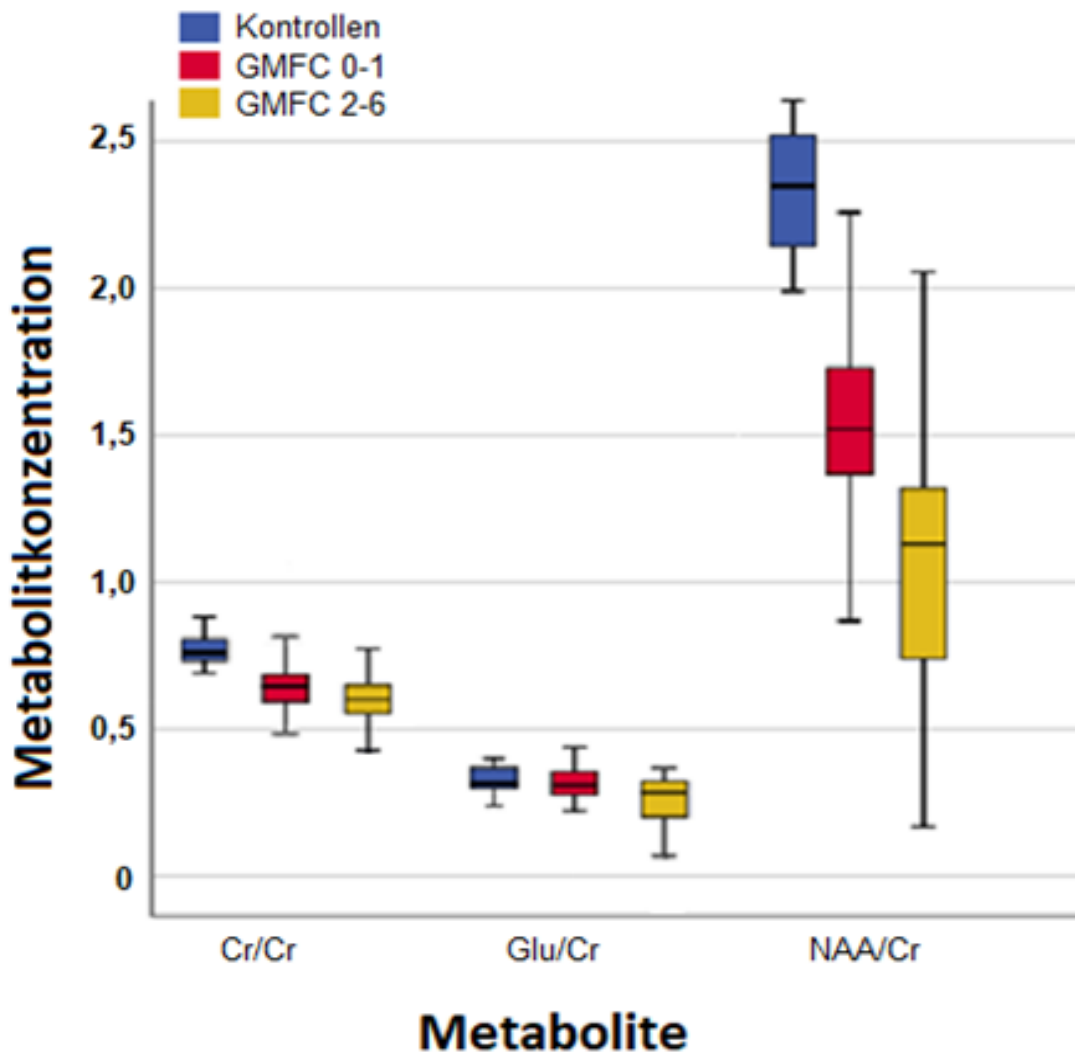
**GMFC 2-6** = motorisch schwer eingeschränkte MLD Patienten

**Myo-Ins/Cr:** mittlere Konzentration von Myo-Inositol (4.09 - 4.01ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

**Cho/Cr:** mittlere Konzentration von Cholin (3.24 - 3.16ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

**NAA/Cr:** mittlere Konzentration von N-Acetyl-Aspartat (2.04 - 1.96ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

Die im Vergleich zu den Kontrollprobanden im Mittel niedrigeren Metabolitkonzentrationen Cr, Glu und NAA sind je nach der Stärke der motorischen Einschränkungen graduell signifikant erniedrigt ( $p < 0,002$ ). Die Patienten mit einem GMFC von 2-6 zeigen hier daher die im Mittel niedrigsten Messwerte, welche unter den motorisch weniger stark eingeschränkten Patienten mit einem GMFC von nur 0-1 liegen.



**Abb. 18:** Boxplots, welche einige Metabolitkonzentrationsunterschiede gemessen bei Kontrollprobanden oder motorisch schwach oder stark eingeschränkten MLD Patienten im Vergleich darstellen

**GMFC (Gross Motor Function Classification in MLD) 0-1** = motorisch leicht eingeschränkte MLD Patienten

**GMFC 2-6** = motorisch schwer eingeschränkte MLD Patienten

**Cr/Cr:** mittlere Konzentration von Kreatin (3.94 - 3.87ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

**Glu/Cr:** mittlere Konzentration von Glutamin (2.34 - 2.26ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

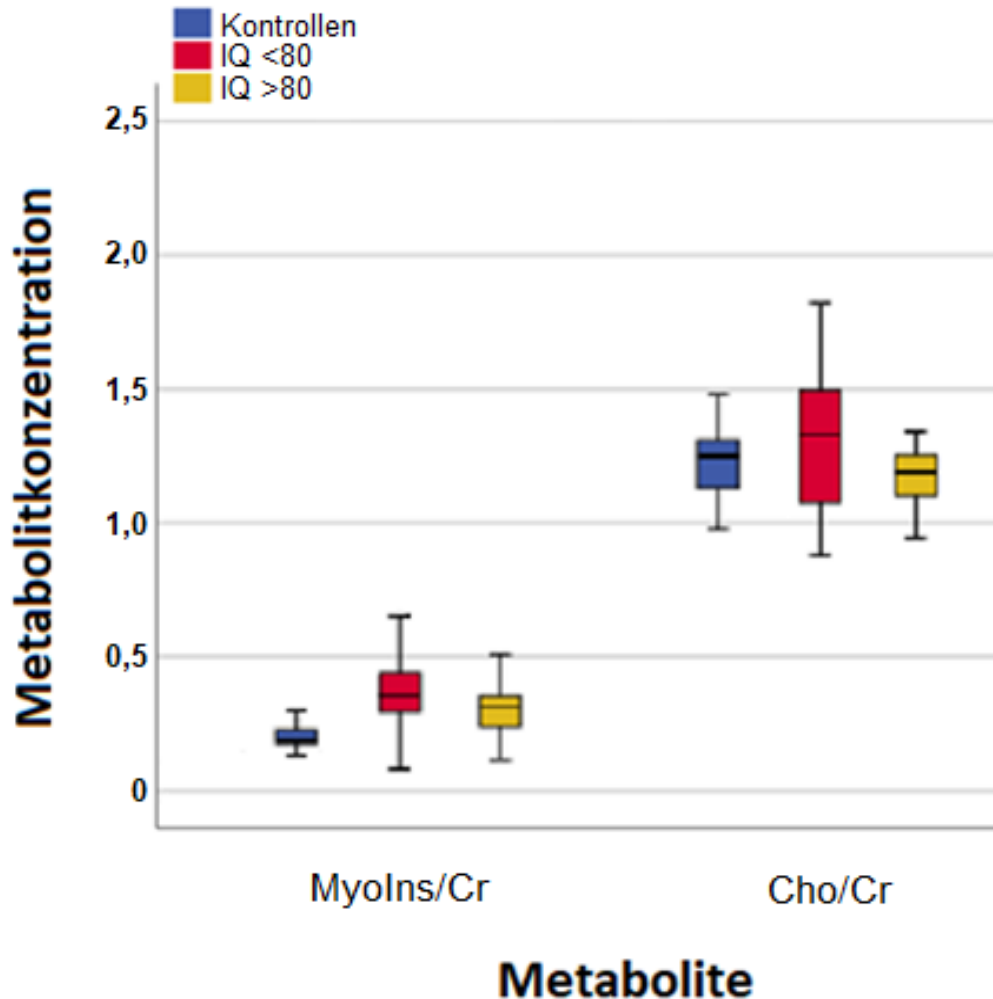
**NAA/Cr:** mittlere Konzentration von N-Acetyl-Aspartat (2.04 - 1.96ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

### 3.1.4. Einfluss kognitiver Funktionen auf MRS-Parameter

Bei dem Vergleich der mittleren Metabolitkonzentrationen gemessen in der anterioren weißen Substanz zeigt sich, dass die Patienten mit stärker ausfallender kognitiver Beeinträchtigung und einem  $IQ < 80$  eher von den Kontrollprobanden abweichen als die Patienten mit einer geringeren oder ausbleibenden Intelligenzminderung und einem  $IQ > 80$ . Die Patienten mit einem  $IQ > 80$  weisen in der mittleren Cho-Konzentration keinen signifikanten Unterschied zu den Kontrollprobanden auf ( $p = 0,528$ ). Der mittlere Unterschied der Cho Messwerte ist jedoch bei den Patienten mit einem  $IQ < 80$  im Vergleich zu den Kontrollprobanden signifikant erhöht ( $p = 0,009$ ) und ebenso im Vergleich zu den Patienten mit einem  $IQ > 80$  ( $p = 0,003$ ). Die mittleren Myo-Ins-Konzentrationen sind bei den Patienten mit einem  $IQ > 80$  leicht ( $p < 0,0001$ ) und bei den Patienten mit einem  $IQ < 80$  etwas mehr ( $p < 0,0001$ ) gegenüber den Kontrollprobanden erhöht. Auch zwischen den beiden kognitiv unterschiedlich stark betroffenen Patientengruppen ist ein signifikanter Unterschied in den Myo-Ins-Konzentrationen messbar ( $p = 0,002$ ).

Die NAA-Konzentration ist bei kognitiv schwer beeinträchtigten MLD Patienten ( $IQ < 80$ ) signifikant gegenüber den geringer kognitiv beeinträchtigten MLD Patienten ( $IQ > 80$ ) erniedrigt. Bei den Kontrollprobanden lässt sich im dagegen die höchste NAA-Konzentration nachweisen.

Messwerte der anterioren weißen Substanz:



**Abb. 19:** Boxplots, welche einige Metabolitkonzentrationsunterschiede bei Kontrollprobanden oder kognitiv schwach (IQ>80) oder stark eingeschränkten (IQ<80) MLD Patienten im Vergleich darstellen

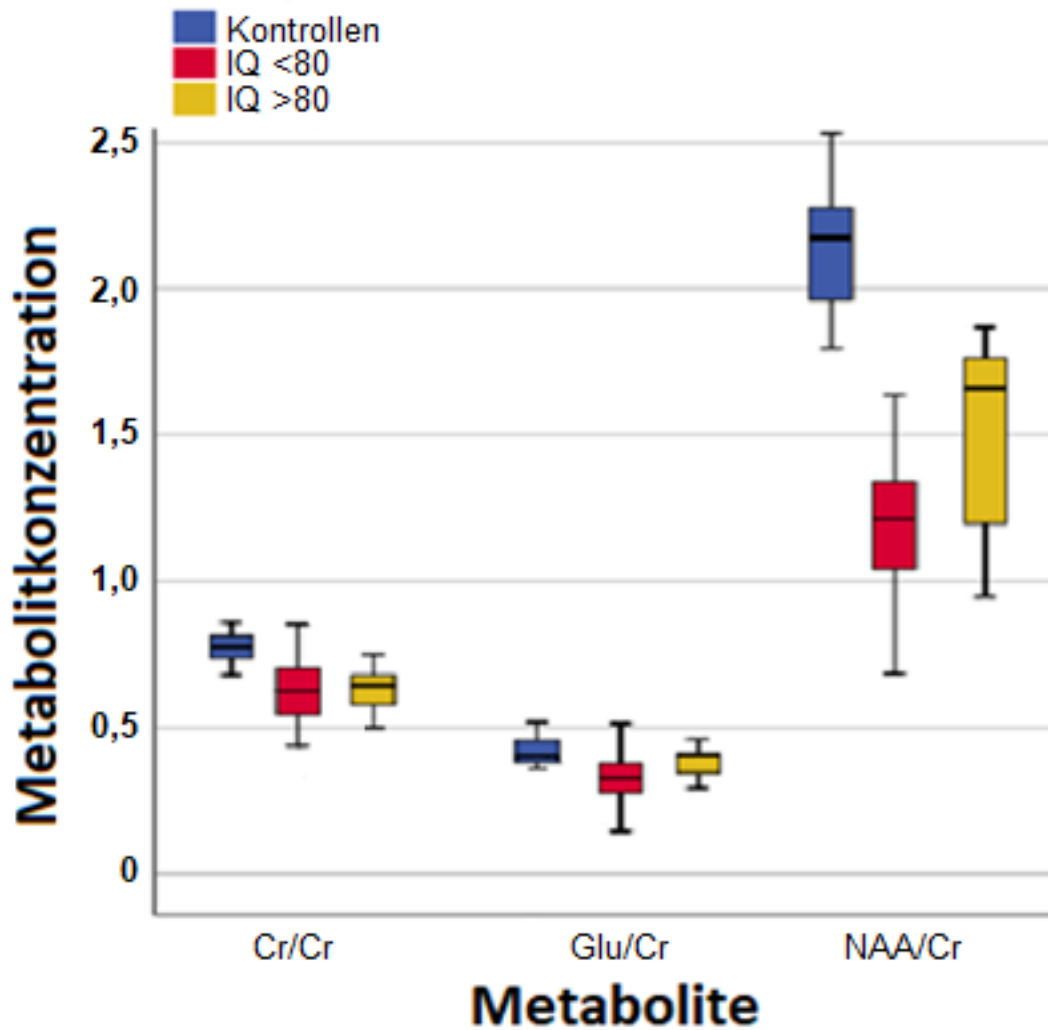
**IQ (Intelligenzquotient) <80** = kognitiv schwer eingeschränkte MLD Patienten  
**IQ>80** = kognitiv leicht oder nicht eingeschränkte MLD Patienten

**Myo-Ins/Cr:** mittlere Konzentration von Myo-Inositol (4.09 - 4.01ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

**Cho/Cr:** mittlere Konzentration von Cholin (3.24 - 3.16ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

**NAA/Cr:** mittlere Konzentration von N-Acetyl-Aspartat (2.04 - 1.96ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

Die im Vergleich zu den Kontrollprobanden im Mittel niedrigeren Metabolitkonzentrationen von Cr, Glu, NAA zeigen einen statistischen Zusammenhang mit dem Ausmaß der Intelligenzminderung (als IQ-Wert). Der Unterschied ist größer, je niedriger der IQ ist. Dieser Unterschied ist signifikant ( $p < 0,003$ ), außer bei dem Vergleich der mittleren Glu Messwerte der Kontrollprobanden mit den kognitiv weniger stark eingeschränkten Patienten ( $IQ > 80$ ) ( $p = 0,469$ ).



**Abb. 20:** Boxplots, welche einige Metabolitkonzentrationsunterschiede bei Kontrollprobanden oder kognitiv schwach (IQ>80) oder stark eingeschränkten (IQ<80) MLD Patienten im Vergleich darstellen

**IQ (Intelligenzquotient) <80** = kognitiv schwer eingeschränkte MLD Patienten  
**IQ>80** = kognitiv leicht oder nicht eingeschränkte MLD Patienten

**Cr/Cr:** mittlere Konzentration von Kreatin (3.94 - 3.87ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

**Glu/Cr:** mittlere Konzentration von Glutamin (2.34 - 2.26ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

**NAA/Cr:** mittlere Konzentration von N-Acetyl-Aspartat (2.04 - 1.96ppm) / Kreatin (3.05 - 2.97ppm)

# 4. Diskussion

## 4.1. Unterschiede zwischen MLD Patienten und Kontrollprobanden

Die Ergebnisse zeigen einen signifikanten statistischen Zusammenhang der Metabolitkonzentrationsänderungen mit dem Ausmaß der klinischen Beeinträchtigung der MLD Patienten. Es konnte gezeigt werden, dass die Konzentrationsunterschiede von Myo-Inositol, Cholin und NAA sich als die stabilsten Parameter durch alle Testbedingungen darstellen und statistisch am zuverlässigsten den Zusammenhang mit den Symptomen der Patienten darstellen können.

Durch die neue und flexiblere Methode der Datenauswertung konnten eindeutige Unterschiede der MRS-Parameter zwischen MLD Patienten und Kontrollprobanden dargestellt werden. Zudem können verschiedene Symptomkomplexe und deren Progredienz durch die MRS-Parameter quantifiziert werden.

### 4.1.1. Zusammenhang von MRS-Parametern und der klinischen Präsentation von MLD

Im Folgenden besonders hervorgehoben sind die Metabolite Cholin, Myo-Inositol und N-Acetylaspartat. Die Erkrankungsschwere von MLD Patienten lässt sich mit den Konzentrationsänderungen dieser Metabolite beschreiben. So weisen Patienten mit spätinfantiler MLD, die einen rascheren Krankheitsprogress erleiden als Patienten mit juveniler MLD, größere Unterschiede durch höhere Myo-Inositol- und Cholin-Werte als Kontrollprobanden auf, jedoch niedrigere NAA-Werte<sup>39</sup>.

Die erhöhten Myo-Ins- und Cholin-Werte lassen sich vor allem durch das in der weißen Substanz vermehrt vorhandene und durch MLD betroffene Myelin erklären<sup>44,45</sup>. MLD betrifft vor allem die weiße Substanz<sup>33</sup>. Bei Untersuchung der weißen Substanz ließ sich ein starker Zusammenhang zwischen dem MLD Krankheitsausmaß und der Differenz der jeweiligen Metabolitkonzentration messen. Die Metabolite, Zwischenprodukte der fortschreitenden Demyelinisierung, können daher vor allem in myelinreichen Bereichen



gemessen werden. Deshalb können die erhöhten Myo-Ins- und Cholin- sowie die erniedrigten Kreatin- und NAA-Werte als Ausdruck des Krankheitsprogresses und der Destruktion der Myelinscheiden gewertet werden. Je weiter die Krankheit und damit die Demyelinisierung fortgeschritten ist, desto stärker ist die Abweichung der Metabolitkonzentrationen der MLD Patienten im Vergleich zu den Kontrollprobanden. Diese Dynamik wird besonders deutlich, wenn man Patienten der aggressiveren spätinfantilen MLD Form mit der prognostisch günstigeren juvenilen Form vergleicht. Myo-Ins und Cholin als Marker eines aktiven Demyelinisierungsprozesses wiesen bei spätinfantilen MLD Patienten deutlich höhere Konzentrationen auf als bei juvenilen Patienten, die wiederum höhere Konzentrationen als die Kontrollprobanden aufwiesen<sup>39</sup>. NAA als Marker für intaktes neuroaxonales Gewebe hingegen war bei den schwerer betroffenen Patienten mit spätinfantiler MLD deutlich niedriger als bei den juvenilen MLD Patienten, die wiederum eine niedrigere Konzentration als die Kontrollprobanden aufwiesen. Hierdurch lässt sich der Erkrankungsfortschritt sichtbar machen, wodurch Rückschlüsse auf die Myelinschäden möglich sind.

Metabolite wie Kreatin und Glutamin weisen einige signifikante Ergebnisse auf, wenn auch weniger ausgeprägt als die zuvor genannten. In mehreren Publikationen konnte ebenfalls die klinische Relevanz dieser Metabolite dargestellt werden<sup>32,33,38,46</sup>.

## **4.2. Bedeutung einzelner Metabolite**

### **4.2.1. Myo-Inositol (4.09 - 4.01ppm)**

Der bei den MLD Patienten erkennbare Myo-Inositol Anstieg lässt sich auf die bei der Erkrankung typischen Demyelinisierungsprozesse zurückführen. Dadurch lassen sich auch die in der weißen Substanz signifikant höheren Myo-Ins Level erklären. Aktive Demyelinisierungsprozesse können vor allem durch die initial mit dickeren Myelinscheiden ausgezeichnete weiße Substanz zu einem Anstieg von Myo-Ins führen. Eine erhöhte Myo-Ins-Konzentration kann ebenso mit dem Ausmaß einer Gliazelldegeneration korrelieren<sup>46</sup>. MLD weist im Gegensatz zu anderen Leukodystrophien eine 2-3fach höhere Myo-Ins

Konzentration in der weißen Substanz auf, welche der von Kruse et al. 1993 beschriebenen Pathophysiologie der Demyelinisierung entspricht<sup>47</sup>.

Myo-Ins-Konzentrationen sind direkt nach der Geburt besonders hoch (so Hanefeld et al. 1996) und fallen bis zum 3.-4. Lebensmonat ab. Zu diesem Zeitpunkt sind ähnliche Konzentrationen wie bei Erwachsenen messbar<sup>46,48</sup>. Diese altersabhängigen Konzentrationsunterschiede sind bei der verwendeten Kohorte vermutlich nicht relevant, da die MR-Spektroskopie Messung bei der jüngsten Patientin in ihrem 31. Lebensmonat durchgeführt wurde.

#### **4.2.2. Cholin (3.24 - 3.16ppm)**

Der Anstieg der Cholin-Konzentration bei MLD Patienten korreliert ebenfalls mit der Erkrankungsschwere und kann als Aktivitätsmarker membranöser Umbauprozesse interpretiert werden<sup>26,33,46</sup>. Wie bei Myo-Ins lassen sich erhöhte Cholin-Konzentrationen in der weißen Substanz von MLD Patienten messen. Eine erhöhte Krankheitsaktivität, die zu einer Destruktion der Myelinscheiden führt, könnte demnach vor allem in der weißen Substanz auftreten.

I Dali et al. beschreiben eine erhöhte Cholin-Konzentration beim aktiven Demyelinisierungsprogress, wohingegen eine erniedrigte Cholin-Konzentration bei stark fortgeschrittenem Krankheitsstadium gemessen wurden und einen Hinweis auf das Vorliegen einer Hirnatrophie geben könnte<sup>33</sup>.

Entwicklungsphysiologisch sinkt die nach der Geburt höhere Cholin-Konzentration stetig bis zu einem Lebensalter von etwa 1-3 Jahren<sup>33,46,48</sup>, danach können ähnliche Konzentrationen wie bei Erwachsenen gemessen werden<sup>43</sup>. Ab diesem Zeitpunkt wurde vermutlich das zuvor in höheren Konzentrationen frei vorliegende Cholin in die sich entwickelnden und wachsenden Myelinscheiden eingebaut.

#### **4.2.3. N-Acetyl-Aspartat (2.04 - 1.96ppm)**

Der Metabolit NAA zeigte sich als beständigster Metabolit und im Vergleich zwischen Kontrollprobanden und Patienten war die Konzentration stets signifikant niedriger. Wenn ein einzelner Metabolit als Parameter für die Einschätzung des MLD Krankheitsprogresses gewählt werden sollte, so wäre

vermutlich NAA am geeignetsten. Der NAA-Abfall stellt zuverlässig das Krankheitsausmaß der MLD Patienten dar. Die NAA-Konzentration korreliert mit der Menge an neuroaxonalem Gewebe<sup>33,46,49</sup>. Eine mit MLD einhergehende Destruktion von neuroaxonalem Gewebe führt demnach zu niedrigeren Konzentrationen des Metabolits.

I Dali et al. beschreiben 2010 einen NAA-Abfall der weißen Substanz bei Patienten mit einer spätinfantilen MLD. Sie beschreiben einen stabileren Zusammenhang zwischen NAA-Abfall und Erkrankungsschwere als bei anderen Metaboliten. Weiterhin empfehlen sie NAA als Biomarker für MLD zu etablieren<sup>33</sup>. Als Biomarker könnte NAA bei der Auswahl einer geeigneten Therapie entscheiden ob eine Stammzelltransplantation prognoseverbessend wäre. Rappard et al.<sup>32</sup> konnten eine deutlich verminderte NAA-Konzentration bei MLD Patienten feststellen, die einen Krankheitsprogress nach einer Stammzelltransplantation hatten.

Generell steigt die Konzentration von NAA im frühen Kindesalter im Zuge der fortschreitenden Myelinisierung an<sup>46</sup>. Direkt nach der Geburt können relativ niedrige NAA-Werte gemessen werden<sup>46</sup>, die stetig bis zum Alter von 2-3 Jahren<sup>33,46,48</sup> ansteigen, ab welchem Zeitpunkt ähnliche Konzentrationen wie im Erwachsenenalter gemessen werden können.

Der hier verwendete Datensatz beinhaltet wie die Publikation von i Dali et al. 2010<sup>33</sup> nur MLD Patienten mit einem Alter über 2 Jahren. Der jüngste Patient bekam mit 31 Monaten eine MR-Spektroskopie Messung und weist ausreichend hohe NAA-Konzentrationen auf, sodass nicht davon auszugehen ist, dass falsch niedrige NAA-Werte gemessen wurden. Eine weitere Patientin gehört mit 34 Lebensmonaten zu den einzigen zwei Messungen bei MLD Patienten, die knapp vor dem Erreichen des 3. Lebensjahres durchgeführt worden sind.

Wellard et al. beschrieben 2005, dass interindividuell die NAA-Konzentrationsmenge physiologisch um 5-20% variieren kann<sup>50</sup>.

#### **4.2.4. Kreatin (3.94 - 3.87ppm)**

Kreatin als Energielieferant gilt als essentiell für den zerebralen Metabolismus und kann sowohl in Neuronen als auch Gliazellen gefunden werden<sup>51</sup>.

Eine signifikant niedrigere Kreatin-Konzentration bei MLD Patienten ( $p < 0,0001$ ) könnte demnach eine eingeschränkte Funktionsfähigkeit durch einen geringeren Stoffwechsel im Gehirn darstellen.

Sowohl Lensman et al. 2006 als auch Braissant et al. 2002 konnten einen protektiven Effekt von Kreatin auf hirnschädigende Prozesse nachweisen<sup>52,53</sup>. Dies könnte ein weiterer interessanter Forschungsansatz bei MLD Patienten sein.

#### **4.2.5. Glutamin (2.34 - 2.26ppm)**

Glutamin ist ein amidierter Metabolit des exzitatorischen Neurotransmitters Glutamat<sup>51</sup>. Erhöhte Glutamin-Konzentrationen lassen sich nach Urenjak et al. 1963 vor allem in Oligodendrozyten finden<sup>54</sup>. Demnach könnten niedrigere Konzentrationen auf eine Demyelinisierung hinweisen. Glutamin konnte bei den hier gemessenen MLD Patienten in der weißen Substanz in signifikant niedrigeren Konzentrationen nachgewiesen werden als bei den Kontrollprobanden ( $p < 0,0001$ ). Dies ließe sich durch die bereits geschädigten Myelinscheiden erklären.

### **4.3. Unterschiede der MRS-Parameter nach Hirnregion**

#### **4.3.1. Metabolitkonzentrationsunterschiede der weißen und der grauen Substanz**

Analog zu den Publikationen von Kruse et al. 1993<sup>47</sup>, I Dali et al. 2010<sup>33</sup>, Van Rappard et al. 2014<sup>21</sup> und Pouwels et al. 2014<sup>48</sup> wurden in dieser Arbeit MR-spektroskopisch erhobene Metabolitkonzentrationen der grauen und weißen Substanz von MLD Patienten miteinander verglichen. Dabei zeigten sich in der weißen Substanz erhöhte Myo-Ins- und Cholin-Konzentrationen, die auf einen aktiven Demyelinisierungsprogress sowie membranöse Umbauprozesse hinweisen können. Pouwels et al. konnten bei gesunden Probanden hingegen in der kortikalen grauen Substanz höhere Myo-Ins-Konzentrationen nachweisen als in der weißen Substanz<sup>38</sup>. Dies unterstützt die Hypothese, dass der Pathomechanismus von MLD vor allem in der weißen Substanz und ihren Myelinscheiden wirkt. Groeschel et al. konnten 2012 im konventionellen MRT

einen stärker als zuvor angenommenen Einfluss von MLD auf die graue Substanz und ihr im Vergleich zu Gesunden kleineres Volumen nachweisen<sup>13</sup>. Ob jedoch die Hirnatrophie, die Demyelinisierung oder die Sulfatidakkumulation die Symptome bei MLD hervorrufen ist noch nicht abschließend geklärt<sup>20</sup>. Wenn es jedoch um die chemischen Prozesse auf molekularer Ebene und den Demyelinisierungsprogress von MLD geht, so lässt sich dies besonders durch die MR-Spektroskopie und die Konzentrationsänderungen verschiedener Metabolite darstellen. Diese gemessenen Metabolitkonzentrationsänderungen können vor allem die Änderung der biochemischen Zusammensetzung in der weißen Substanz darstellen.

Möglicherweise ist der mit der Demyelinisierung einhergehende Anfall von Metaboliten in der weißen Substanz eindeutiger quantifizierbar als die durch eine Atrophie ausgelöste Abnahme an messbaren Metabolite in der grauen Substanz.

Cholin war ebenfalls bei gesunden Probanden in der weißen Substanz in höheren Konzentrationen als in der grauen Substanz messbar (Pouwels et al. 1998<sup>38</sup>). I Dali et al. 2010 konnten die höchsten Cholin-Konzentrationen bei MLD Patienten messen, die einen durch aktivierte Demyelinisierungsprozesse ausgelösten Krankheitsprogress erlitten hatten<sup>33</sup>.

Der in Neuronen vorkommende Metabolit NAA<sup>46</sup> wurde bei Kontrollprobanden in der weißen Substanz und vor allem im kortikospinalen Trakt in höheren Konzentrationen gemessen als in der grauen Substanz. Auch Pouwels et al. konnten dies 1998 nachweisen<sup>38</sup>. Bei MLD Patienten hingegen konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den NAA-Konzentrationen der weißen und grauen Substanz gemessen werden. Die NAA-Konzentration im kortikospinalen Trakt war niedriger verglichen mit Kontrollprobanden, aber dennoch höher als die Konzentration im anterioren Messpunkt der weißen Substanz.

Dies lässt sich durch den Rückgang von neuroaxonalem Gewebe erklären, welcher den Pathomechanismus von MLD ausmacht. Die Myelinscheiden sind in der weißen Substanz und besonders um den kortikospinalen Trakt dick<sup>26,55</sup> und NAA reich. Bei stärkerer Demyelinisierung lässt sich weniger NAA nachweisen. Dies lässt sich an den nicht signifikanten Unterschieden von NAA

zwischen der weißen und grauen Substanz erkennen. Wenn jedoch die NAA-Konzentration im kortikospinalen Trakt gemessen wurde, war diese signifikant geringfügig höher als die in der anterioren weißen Substanz gemessene Konzentration. Demnach wäre hier noch ein Rest an neuroaxonalem Gewebe zu vermuten. Dennoch ist eine deutliche Atrophie des kortikospinalen Trakts durch die Abnahme von NAA anzunehmen.

Die anderen gemessenen Metabolitkonzentrationen ließen keine vergleichbare signifikante Unterscheidung zwischen der weißen und grauen Substanz zu.

#### **4.4. Möglichkeiten und Grenzen der hier verwendeten Methodik**

##### **4.4.1. MR-Spektroskopie als Untersuchungsmethode bei MLD Patienten**

MRS-Parameter und die damit quantifizierten Metabolitkonzentrationsunterschiede zeigen nachweislich einen starken statistischen Zusammenhang mit dem Krankheitsausmaß von MLD Patienten. Die Spektroskopie als Untersuchungsmethode hat klinischen Parametern gegenüber den Vorteil, dass sie eine objektivierbare Einschätzung möglich macht und Einsichten in den zu Grunde liegenden Pathomechanismus offen legen kann. Es lassen sich hirnganische Schädigungen beschreiben und mit Symptomen korrelieren. Im Vergleich zu MRT Aufnahmen lassen sich in der Spektroskopie die Unterschiede einzelner Metabolite untersuchen, die Rückschlüsse auf den Fortschritt der MLD-typischen Demyelinisierung erlauben. Dies kann tieferen Einblick in den biochemischen Krankheitsverlauf zulassen und beim Verständnis von MLD helfen. MRS ermöglicht unterschiedliche Metabolite in vivo zu quantifizieren<sup>56</sup>.

Das hier verwendete Chemical Shift Imaging (CSI) Verfahren zeichnet sich durch gute Qualität und eine hohe Auflösung aus. Dennoch ist die MR-Spektroskopie eine vergleichsweise zeitaufwendige Methode und kann nicht in jeder Klinik durchgeführt werden.

#### **4.4.2. MRS-Parameter als Quotient des jeweiligen Metaboliten mit Kreatin**

Die Bildung von Quotienten der jeweiligen Metabolitkonzentrationen mit dem Kreatin zugeordneten Konzentration wurde zur Angleichung des Datensatzes durchgeführt. Diese Berechnung erfolgte, um individuelle Störfaktoren wie einen unterschiedlichen Kopfdurchmesser oder unterschiedlich große Liquormengen auszugleichen. Erhobene Daten, welche beispielsweise an Patienten mit einem Hydrozephalus gemessen wurden, sollen durch die Quotientenbildung vergleichbarer werden.

Dieses Vorgehen birgt jedoch die Gefahr quantitative Metabolitkonzentrationsunterschiede zu nivellieren und möglicherweise damit das Ergebnis zu beeinflussen.

#### **4.5. Ausblick: NAA als sinnvoller klinischer Parameter und weitere Forschung**

NAA als Parameter zur klinischen Überwachung von MLD Patienten zu benutzen wurde bereits von I Dali et al. 2010 empfohlen<sup>33</sup>.

Die publizierten Ergebnisse dieser Arbeit zeigen ebenfalls eine durch MR-spektroskopische Daten messbare Abbildung des klinischen Verlaufs bei MLD Patienten<sup>39</sup>. Myo-Ins sowie Cholin wären ebenfalls als einzelne Metabolite geeignet, klinische Aspekte von MLD zu repräsentieren. Doch NAA zeigt durchweg verlässlich signifikante statistische Zusammenhänge mit sowohl kognitiven als auch motorischen Fähigkeiten von MLD Patienten. Van Rappard et al. konnten 2018 ebenfalls NAA als Prädiktor für den Krankheitsverlauf von MLD Patienten identifizieren und dieser konnte zuverlässiger als mit der Kreatin- oder Glutamat- und Glutamin-Konzentration die Erkrankungsschwere abbilden<sup>32</sup>.

Falls also der Fokus auf einen einzelnen Metaboliten gelegt werden sollte, so wäre dies am ehesten NAA. Eine umfassende Repräsentation ließe sich jedoch durch mehreren Metabolitkonzentrationen im Zusammenspiel erlangen. Weiterhin sollte neben dem MR-spektroskopisch dargestellten

Krankheitsprogress der Forschungsfokus auf die Therapieplanung gelegt werden. Dabei könnte NAA ein sinnvoller sekundärer Endpunkt sein. MR-Spektroskopie würde eine interessante Methode zur Frühdiagnostik bei MLD darstellen und könnte bei präsymptomatischen Patienten bei der Diagnosestellung helfen.



## 5. Zusammenfassung

Mittels MR-Spektroskopie konnten in vivo zerebrale Metabolitenkonzentrationsunterschiede zwischen spätinfantilen und juvenilen MLD Patienten sowie Kontrollprobanden gemessen werden. Die MRS Parameter korrelierten dabei mit der motorischen und kognitiven Funktion von MLD Patienten und sind damit nicht nur biologisch, sondern auch klinisch sinnvolle Parameter.

Eine höhere Konzentration an Myo-Inositol und Cholin, sowie eine niedrigere Konzentration an Kreatin, Glutamin und NAA gehen mit einer deutlicheren Einschränkung der Patienten einher und lassen Rückschlüsse auf den Fortschritt von Demyelinisierungsprozessen zu.

Die schwerer betroffenen spätinfantilen MLD Patienten weisen eine stärkere Abweichung der Metabolitkonzentrationen von den Kontrollprobanden auf als die weniger von der Erkrankung betroffenen juvenilen MLD Patienten.

MLD Patienten, die vor allem motorisch eingeschränkt sind, zeigen im Vergleich zu Kontrollprobanden stärkere Metabolitkonzentrationsunterschiede im kortikospinalen Trakt. Kognitiv eingeschränkte MLD Patienten, weisen vor allem Metabolitkonzentrationsunterschiede im frontalen Marklager auf. Generell war bei MLD Patienten die weiße Substanz stärker betroffen als die kaum von gesunden Kontrollprobanden zu unterscheidende graue Substanz, passend zur Pathophysiologie einer primären Leukodystrophie.

Die MR-Spektroskopie als Methode erlaubt tieferen Einblick in biochemische Prozesse und kann zu einem tieferen Verständnis der MLD führen.

MR-Spektroskopie könnte bei der Therapieplanung helfen, als Surrogatparameter, um Therapieerfolg zu monitoren. Zudem können die MRS-Parameter als sekundärer Endpunkt dienen.

Die neue Herangehensweise der Datenauswertung über flexibel auswählbare, intervallorientierte Spektren als Modell-freie Methode, ermöglicht die Quantifizierung von Metaboliten, die von herkömmlichen MR-Spektroskopie Auswertungsprogrammen möglicherweise nicht erkannt werden. Dies ermöglicht die Erforschung von bisher unbeachteten

Metabolitkonzentrationsänderungen, die sich auch in Überschneidungsbereichen verschiedener, gewissen Metaboliten zugeordneter Spektren abspielt. Von den für diese Arbeit ausgewerteten 10 Messintervallen scheint der dem Metabolit NAA zugeordnete Bereich am vielversprechendsten als Parameter zur objektivierbaren Einschätzung des MLD Krankheitsprogresses und zur Überwachung des Therapieverlaufs.

## 6. Literaturverzeichnis

1. Groeschel S, Krägeloh-Mann I. *Neuropädiatrie, Kapitel 21. Leukodystrophien*. Vol UNI-MED Science, Verlag AG, Bremen.; 2020, S. 509-515.
2. Klöppel G, Kreipe HH, Remmele W, Paulus W, Schröder JM, eds. *Pathologie*. Springer Berlin Heidelberg; 2012, S. 132-133. doi:10.1007/978-3-642-02324-8.
3. Gieselmann V, Krägeloh-Mann I. *Metachromatic Leukodystrophy*. In: Valle DL, Antonarakis S, Ballabio A, Beaudet AL, Mitchell GA. eds. *The Online Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. McGraw Hill; 2019. Accessed March 05, 2023. <https://ommbid.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2709&sectionid=225546629>.
4. Barczykowski AL, Foss AH, Duffner PK, Yan L, Carter RL. *Death rates in the U.S. due to Krabbe disease and related leukodystrophy and lysosomal storage diseases*. *Am J Med Genet A*. 2012;158A(11):2835-2842. doi:10.1002/ajmg.a.35624.
5. Varki A, Cummings R, Esko J, Freeze H, Hart G, Marth J. *Essentials of Glycobiology, 4<sup>th</sup> Edition, Chapter 9: Glycosphingolipids*. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1999. Chapter 9, Glycosphingolipids. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK20699/>.
6. Gomez-Ospina N. *Arylsulfatase A Deficiency*. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., eds. *GeneReviews®*. University of Washington, Seattle; 1993. PMID: 20301295.
7. Waheed A, Steckel F, Hasilik A, von Figura K. *Two allelic forms of human arylsulfatase A with different numbers of asparagine-linked oligosaccharides*. *Am J Hum Genet*. 1983;35(2):228-233. PMID: 6132551.
8. Shaimardanova AA, Chulpanova DS, Solovyeva VV, et al. *Metachromatic Leukodystrophy: Diagnosis, Modeling, and Treatment Approaches*. *Front Med (Lausanne)*. 2020;7:576221. Published 2020 Oct 20. doi:10.3389/fmed.2020.576221
9. Seitelberger F. *Structural Manifestations of Leukodystrophies*. *Neuropediatrics*. 1984;15, S. 53-61. doi:10.1055/s-2008-1052382.
10. Takahashi T, Suzuki T. *Role of sulfatide in normal and pathological cells and tissues*. *J Lipid Res*. 2012;53(8):1437-1450. doi:10.1194/jlr.R026682.

11. Webster HD. *Schwann cell alterations in metachromatic leukodystrophy: preliminary phase and electron microscopic observations. J Neuropathol Exp Neurol.* 1962;21:534-554. doi:10.1097/00005072-196210000-00003.
12. Rosenberg JB, Kaminsky SM, Aubourg P, Crystal RG, Sondhi D. *Gene therapy for metachromatic leukodystrophy. J Neurosci Res.* 2016;94(11):1169-1179. doi:10.1002/jnr.23792.
13. Groeschel S, í Dali C, Clas P, Böhringer J, Duno M, Krarup C, Kehrer C, Wilke M, Krägeloh-Mann I. *Cerebral gray and white matter changes and clinical course in metachromatic leukodystrophy. Neurology.* 2012 Oct 16;79(16):1662-70. doi: 10.1212/WNL.0b013e31826e9ad2.
14. 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.* 1991;324(1):18-22. doi:10.1056/NEJM199101033240104.
15. Kreysing J, Figura K, Gieselmann V. *Structure of the arylsulfatase A gene. Eur J Biochem.* 1990;191(3):627-631. doi:10.1111/j.1432-1033.1990.tb19167.x.
16. Kehrer C, Elgün S, Raabe C, Böhringer J, Beck-Wödl S, Bevot A, Kaiser N, Schöls L, Krägeloh-Mann I, Groeschel S. *Association of Age at Onset and First Symptoms With Disease Progression in Patients With Metachromatic Leukodystrophy. Neurology.* 2021;96(2):e255-e266. doi:10.1212/WNL.00000000000011047
17. Conzelmann E, Sandhoff K. *Partial Enzyme Deficiencies: Residual Activities and the Development of Neurological Disorders. Dev Neurosci.* 1983;6(1):58-71. doi:10.1159/000112332.
18. Gieselmann V. *Metachromatic leukodystrophy: genetics, pathogenesis and therapeutic options. Acta Paediatr.* 2008;97(457):15-21. doi:10.1111/j.1651-2227.2008.00648.x.
19. Santhanakumaran V, Groeschel S, Harzer K, Kehrer C, Elgün S, Beck-Wödl S, Hengel H, Schöls L, Haack TB, Krägeloh-Mann I, Laugwitz L, *Predicting clinical phenotypes of metachromatic leukodystrophy based on the arylsulfatase A activity and the ARSA genotype? - Chances and challenges. Mol Genet Metab.* 2022;137(3):273-282. doi:10.1016/j.ymgme.2022.09.009.
20. Gieselmann V, Krägeloh-Mann I. *Metachromatic Leukodystrophy – An Update. Neuropediatrics.* 2010;41(01):1-6. doi:10.1055/s-0030-1253412.
21. van Rappard DF, Boelens JJ, Wolf NI. *Metachromatic leukodystrophy: Disease spectrum and approaches for treatment. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2015;29(2):261-273. doi:10.1016/j.beem.2014.10.001.

22. Hong X, Kumar AB, Daiker J, Yi F, Sadilek M, De Mattia F, Fumagalli F, Calbi V, Damiano R, Bona MD, La Marca G, Vanderver AL, Waldman AT, Adang L, Sherbini O, Woidill S, Suhr T, Kurtzberg J, Beltran-Quintero ML, Escolar M, Aiuti A, Finglas A, Olsen A, Gelb MH. *Leukocyte and Dried Blood Spot Arylsulfatase A Assay by Tandem Mass Spectrometry*. *Anal Chem*. 2020;92(9):6341-6348. doi:10.1021/acs.analchem.9b05274.
23. Rip JW, Gordon BA. *A Simple Spectrophotometric Enzyme Assay with Absolute Specificity for Arylsulfatase A*. *Clin Biochem*. 1998;31(1):29-31. doi:10.1016/S0009-9120(97)00142-2.
24. Philippart M, Sarlieve L, Meurant C, Mechler L. *Human urinary sulfatides in patients with sulfatidosis (metachromatic leukodystrophy)*. *J Lipid Res*. 1971;12(4):434-441. PMID: 5164093.
25. Doherty K, Frazier SB, Clark M, Childers A, Pruthi S, Wenger DA, Duis J. *A closer look at ARSA activity in a patient with metachromatic leukodystrophy*. *Mol Genet Metab Rep*. 2019 Feb 20;19:100460. doi:10.1016/j.ymgmr.2019.100460.
26. Groeschel S, Hagberg GE, Schultz T, Balla DZ, Klose U, Hauser TK, Nägele T, Bieri O, Prasloski T, MacKay AL, Krägeloh-Mann I, Scheffler K. *Assessing White Matter Microstructure in Brain Regions with Different Myelin Architecture Using MRI*. *PLoS One*. 2016 Nov 29;11(11):e0167274. doi:10.1371/journal.pone.0167274.
27. 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*. 2017;4(6):403-410. doi:10.1002/acn3.420.
28. Í Dali C, Groeschel S, Moldovan M, Farah MH, Krägeloh-Mann I, Wasilewski M, Li J, Barton N, Krarup C. *Intravenous arylsulfatase A in metachromatic leukodystrophy: a phase 1/2 study*. *Ann Clin Transl Neurol*. 2021 Jan;8(1):66-80. doi:10.1002/acn3.51254.
29. 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*. 2017;40(4):543-554. doi:10.1007/s10545-017-0052-4.

30. Fumagalli F, Calbi V, Natali Sora MG, Sessa M, Baldoli C, Rancoita PMV, Ciotti F, Sarzana M, Frascini M, Zambon AA, Acquati S, Redaelli D, Attanasio V, Miglietta S, De Mattia F, Barzaghi F, Ferrua F, Migliavacca M, Tucci F, Gallo V, Del Carro U, Canale S, Spiga I, Lorioli L, Recupero S, Fratini ES, Morena F, Silvani P, Calvi MR, Facchini M, Locatelli S, Corti A, Zancan S, Antonioli G, Farinelli G, Gabaldo M, Garcia-Segovia J, Schwab LC, Downey GF, Filippi M, Cicalese MP, Martino S, Di Serio C, Ciceri F, Bernardo ME, Naldini L, Biffi A, Aiuti 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.* 2022 Jan 22;399(10322):372-383. doi: 10.1016/S0140-6736(21)02017-1.
31. Schiffmann R, van der Knaap MS. *Invited Article: An MRI-based approach to the diagnosis of white matter disorders. Neurology.* 2009;72(8):750-759. doi:10.1212/01.wnl.0000343049.00540.c8.
32. van Rappard DF, Klauser A, Steenweg ME, Boelens JJ, Bugiani M, van der Knaap MS, Wolf NI, Pouwels PJW. *Quantitative MR spectroscopic imaging in metachromatic leukodystrophy: value for prognosis and treatment. J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2018 Jan;89(1):105-111. doi: 10.1136/jnnp-2017-316364.
33. i Dali C, Hanson LG, Barton NW, Fogh J, Nair N, Lund AM. *Brain N-acetylaspartate levels correlate with motor function in metachromatic leukodystrophy. Neurology.* 2010;75(21):1896-1903. doi:10.1212/WNL.0b013e3181feb217.
34. van der Voorn JP, Pouwels PJ, Hart AA, Serrarens J, Willemsen MA, Kremer HP, Barkhof F, van der Knaap MS. *Childhood white matter disorders: quantitative MR imaging and spectroscopy. Radiology.* 2006 Nov;241(2):510-7. doi: 10.1148/radiol.2412051345.
35. Sener RN. *Metachromatic leukodystrophy: Diffusion MR imaging and proton MR spectroscopy. Acta Radiol.* 2003;44(4):440-443. doi:10.1080/j.1600-0455.2003.00094.x.
36. Assadi M, Wang DJ, Velazquez-Rodriguez Y, Leone P. *Multi-Voxel 1H-MRS in Metachromatic Leukodystrophy. J Cent Nerv Syst Dis.* 2013;5:JCNSD.S11861. doi:10.4137/JCNSD.S11861.
37. van Egmond ME, Pouwels PJ, Boelens JJ, Lindemans CA, Barkhof F, Steenwijk MD, van Hasselt PM, van der Knaap MS, Wolf NI. *Improvement of white matter changes on neuroimaging modalities after stem cell transplant in metachromatic leukodystrophy. JAMA Neurol.* 2013 Jun;70(6):779-82. doi: 10.1001/jamaneurol.2013.629.

38. Pouwels PJW, Frahm J. *Regional metabolite concentrations in human brain as determined by quantitative localized proton MRS. Magn Reson Med.* 1998;39(1):53-60. doi:10.1002/mrm.1910390110.
39. Feldmann J, Martin P, Bender B, Laugwitz L, Zizmare L, Trautwein C, Krägeloh-Mann I, Klose U, Groeschel S. *MR-spectroscopy in metachromatic leukodystrophy: A model free approach and clinical correlation. Neuroimage Clin.* 2022 Dec 20;37:103296. doi: 10.1016/j.nicl.2022.103296.
40. Ketelaar, M., van Petegem-van Beek, E., & Visser, J. J. W. (1995). *Gross motor function measure manual: Nederlandse Vertaling. Utrecht, The Netherlands: Utrecht University.*
41. Kott K. *Gross Motor Function Measure (GMFM-66 & GMFM-88) User's Manual Phys Ther.* Vol 83. Oxford University Press; 2003:957-958. Accessed June 15, 2022. <https://www.proquest.com/docview/223112082?pq-origsite=gscholar&fromopenview=true>.
42. 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: Gross Motor Function in Metachromatic Leucodystrophy. Dev Med Child Neurol.* 2011;53(2):156-160. doi:10.1111/j.1469-8749.2010.03821.x.
43. Horská A, Kaufmann WE, Brant LJ, Naidu S, Harris JC, Barker PB. *In vivo quantitative proton MRSI study of brain development from childhood to adolescence: Proton MRSI in Brain Development. J Magn Reson Imaging.* 2002;15(2):137-143. doi:10.1002/jmri.10057.
44. Dubois J, Dehaene-Lambertz G, Kulikova S, Poupon C, Hüppi PS, Hertz-Pannier L. *The early development of brain white matter: A review of imaging studies in fetuses, newborns and infants. Neuroscience.* 2014;276:48-71. doi:10.1016/j.neuroscience.2013.12.044.
45. Timmler S, Simons M. *Grey matter myelination. Glia.* 2019;67(11):2063-2070. doi:10.1002/glia.23614.
46. Frahm J, Hanefeld F. *Localized proton magnetic resonance spectroscopy of cerebral metabolites. Neuropediatrics.* 1996;27(2):64-69. doi:10.1055/s-2007-973751.
47. Kruse B, Hanefeld F, Christen HJ, Bruhn H, Michaelis T, Hänicke W, Frahm J. *Alterations of brain metabolites in metachromatic leukodystrophy as detected by localized proton magnetic resonance spectroscopy in vivo. J Neurol.* 1993 Dec;241(2):68-74. doi: 10.1007/BF00869766.

48. Pouwels, P.J.W., Vanderver, A., Bernard, G., Wolf, N.I., Dreha-Kulczewski, S.F., Deoni, S.C.L., Bertini, E., Kohlschütter, A., Richardson, W., French-Constant, C., Köhler, W., Rowitch, D. and Barkovich, A.J. (2014), *Hypomyelinating leukodystrophies: Translational research progress and prospects. Ann Neurol.*, 2014;76(1):5-19. doi:10.1002/ana.24194.
49. Bjartmar C, Battistuta J, Terada N, Dupree E, Trapp BD. *N-acetylaspartate is an axon-specific marker of mature white matter in vivo: A biochemical and immunohistochemical study on the rat optic nerve. Ann Neurol.* 2002;51(1):51-58. doi:10.1002/ana.10052.
50. Wellard RM, Briellmann RS, Jennings C, Jackson GD. *Physiologic variability of single-voxel proton MR spectroscopic measurements at 3T. AJNR Am J Neuroradiol.* 2005;26(3):585-590. PMID: 15760870.
51. Hanefeld FA, Brockmann K, Pouwels PJW, Wilken B, Frahm J, Dechent P. *Quantitative proton MRS of Pelizaeus– Merzbacher disease: evidence of dys- and hypomyelination. Neurology.* 2005;65(5):701-706. doi:10.1212/01.wnl.0000174642.32187.20.
52. Lensman M, Korzhevskii DE, Mourovets VO, Kostkin VB, Izvarina N, Perasso L, Gandolfo C, Otellin VA, Polenov SA, Balestrino M. *Intracerebroventricular administration of creatine protects against damage by global cerebral ischemia in rat. Brain Res.* 2006 Oct 9;1114(1):187-94. doi: 10.1016/j.brainres.2006.06.103.
53. Braissant O, Henry H, Villard AM, Zurich MG, Loup M, Eilers B, Parlascino G, Matter E, Boulat O, Honegger P, Bachmann C. *Ammonium-induced impairment of axonal growth is prevented through glial creatine. J Neurosci.* 2002 Nov 15;22(22):9810-20. doi: 10.1523/JNEUROSCI.22-22-09810.2002.
54. Urenjak J, Williams S, Gadian D, Noble M. *Proton nuclear magnetic resonance spectroscopy unambiguously identifies different neural cell types. J Neurosci.* 1993;13(3):981-989. doi:10.1523/JNEUROSCI.13-03-00981.1993.
55. Yagishita A, Nakano I, Oda M, Hirano A. *Location of the corticospinal tract in the internal capsule at MR imaging. Radiology.* 1994;191(2):455-460. doi:10.1148/radiology.191.2.8153321.
56. Hope PL, Moorcraft J. *Magnetic Resonance Spectroscopy. Clin Perinatol.* Vol. 18, Issue 3, 1991;18(3):535-548. PMID: 1934854.



## 7. Erklärung Eigenanteil

Diese Arbeit „MR-Spektroskopie bei metachromatischer Leukodystrophie“ wurde am Universitätsklinikum Tübingen in der Neuropädiatrie unter der Betreuung von Herrn Prof. Dr. Samuel Gröschel eigenständig durchgeführt. Die Durchführung des Studienkonzepts erfolgte in Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Dr. Samuel Gröschel (Betreuer dieser Dissertation, Oberarzt der Neuropädiatrie). Die Datenauswertung der MR-Spektroskopie wurde unterstützt durch Herrn Professor Dr. Klose (MR Forschung in der radiologischen Universitätsklinik Tübingen), Dr. Pascal Martin und PD Dr. Benjamin Bender. Die statistische Auswertung erfolgte eigenständig.

Die Publikation (*MR-spectroscopy in metachromatic leukodystrophy: A model free approach and clinical correlation - NeuroImage: Clinical 2023*) wurde maßgeblich von Dr. Pascal Martin und PD Dr. Benjamin Bender als Koautoren unterstützt. Alle Koautoren der Publikation Feldmann et al. waren an der Erstellung des Manuskripts und der Veröffentlichung in der Zeitschrift Neuroimage Clinical beteiligt.

Ich versichere, die Dissertationsschrift selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Tübingen, den

---

Joana Marie Feldmann

## 8 Veröffentlichungen

Anteile der vorliegenden Dissertationsschrift wurden bereits in der folgenden Publikation veröffentlicht:

*Joana Feldmann, Pascal Martin, Benjamin Bender, Lucia Laugwitz, Laimdota Zizmare, Christoph Trautwein, Ingeborg Krägeloh-Mann, Uwe Klose, Samuel Groeschel - MR-spectroscopy in metachromatic leukodystrophy: A model free approach and clinical correlation - NeuroImage: Clinical 2023 - Volume 37 - <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2022.103296>.*

Die freundliche Genehmigung des Elsevier Verlags zur Wiederverwendung der bereits publizierten Inhalte wurde eingeholt und liegt vor.

## 9. Danksagung

Für die Überlassung sowie die Einarbeitung in das Thema möchte ich Herrn Professor Dr. Samuel Gröschel danken. Er war stets erreichbar und hat mich durch seinen Rat und seine Expertise sehr unterstützt. Ohne die gründliche Vorarbeit wäre diese Dissertation nicht möglich gewesen. Ich möchte Herrn Prof. Dr. Samuel Gröschel außerordentlich für seine Bemühungen und Geduld danken. Ich konnte sehr viel von ihm lernen und bedauere, ihn in Zukunft als Ansprechpartner und Lehrer entbehren zu müssen. Ich kann und möchte mir nicht vorstellen wie diese Arbeit ohne seine großzügige Unterstützung gelaufen wäre.

Mein Dank gilt auch Judith Beschle und Saskia Elkün für die strukturierte Bearbeitung der Datenbank.

Ein besonderer Dank gebührt Herrn Professor Klose, der durch die Erfassung des Skripts, sowie durch die Berechnungen der MR-Spektroskopie Daten eine großartige Unterstützung bei der Datenauswertung war.

Der Arbeitsgruppe und den regelmäßigen MLD Meetings verdanke ich wertvolle Rückmeldung zu den Ergebnissen dieser Arbeit, insbesondere Frau Professor Dr. Krägeloh-Mann.

Die Zusammenarbeit bei der Publikation mit Herrn Dr. Pascal Martin war sehr aufschlussreich und ich danke für den tieferen Einblick in wissenschaftliches Arbeiten und Publizieren.

Darüber hinaus gilt meine Dankbarkeit meinem Freund Philip, der mir unterstützend zur Seite stand und immer für mich da war.