

Aus der

Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen

Abteilung Kinderheilkunde III mit Poliklinik

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

**Die Quantifizierung der zerebralen Mikrostruktur bei
Metachromatischer Leukodystrophie mittels
Diffusions-Tensor-Bildgebung**

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

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

vorgelegt von

Amedick, Lucas Bastian

2024

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professor Dr. W. S. Gröschel
2. Berichterstatter: Professor Dr. U. Ziemann

Tag der Disputation: 05.03.2024

Widmung

Für meine Familie, meine Freunde und alle Kinder dieser Welt.

Inhaltsverzeichnis

	<u>Seite</u>
Abkürzungsverzeichnis.....	VII
Abbildungsverzeichnis.....	IX
Tabellenverzeichnis.....	XI
1 Einleitung	1
1.1 Wissenschaftliche Veröffentlichungen	1
1.2 Metachromatische Leukodystrophie	1
1.2.1 Pathophysiologie und Diagnostik der MLD	2
1.2.2 Klinische Formen nach Erstmanifestation	3
1.2.3 Symptomatik der MLD	4
1.2.4 Verlauf und Klassifizierung nach GMFC-MLD	6
1.2.5 Therapieoptionen	6
1.3 Stand der Forschung.....	8
1.4 Fragestellung und Hypothese	10
1.5 Hinweis zu gendergerechten Kollektivbezeichnungen.....	11
1.6 Lizenzen für die Verwendung von Abbildungen und Tabellen	11
2 Material und Methoden	12
2.1 Datengrundlage.....	12
2.1.1 Patientenkollektiv	12
2.1.2 Kontrollkollektiv.....	13
2.1.3 Ein- und Ausschlusskriterien	13
2.1.4 Gütekriterien wissenschaftlichen Arbeitens.....	14
2.2 Anatomische MRT-Bildgebung	15
2.2.1 T1-gewichtete Scans	15
2.2.2 T2-gewichtete Scans	16
2.3 Diffusionsgewichtete MRT-Bildgebung	17
2.3.1 Maß für die Diffusionswichtung als b-Wert.....	17
2.3.2 Diffusion Weighted Imaging	17
2.3.3 Diffusion Tensor Imaging	18
2.3.4 Apparenter Diffusionskoeffizient.....	18
2.3.5 Fraktionelle Anisotropie	18
2.3.6 Eigenvektor	19
2.4 Klinische Parameter	20
2.4.1 GMFC-MLD	20
2.4.2 Krankheitsverlauf.....	21
2.4.3 Intelligenzquotient	21
2.5 Datengewinnung und -verarbeitung	22
2.5.1 Vorverarbeitung der Rohdaten	22
2.5.1.1 Konvertierung der Rohdaten.....	23
2.5.1.2 Rauschkorrektur	23

2.5.1.3	Bewegungskorrektur.....	23
2.5.1.4	Berechnung von b0 und Generierung von ADC, FA und EV	24
2.5.1.5	Koregistrierung mit T1- und T2- Bildern.....	24
2.5.2	ROI	25
2.5.2.1	Frontal White Matter	26
2.5.2.2	Central Region.....	28
2.5.2.3	PLIC.....	30
2.5.3	Messung der ADC- und FA-Werte in den ROI	31
2.6	Statistische Auswertung.....	32
3	Ergebnisse	33
3.1	Diffusionsparameter von Patienten und gesunden Kontrollprobanden im zeitlichen Verlauf.....	33
3.1.1	Zunahme des apparenten Diffusionskoeffizienten bei MLD- Patienten	33
3.1.2	Abnahme der fraktionellen Anisotropie der Faserbahnen bei MLD-Patienten	36
3.2	Zusammenhang der Diffusionsparameter ADC und FA mit den klinischen Parametern GMFC-MLD und Intelligenzquotient	38
3.2.1	GMFC-MLD und Diffusionsparameter.....	38
3.2.2	Intelligenzquotient und Diffusionsparameter	40
3.3	Prädiktion des Krankheitsverlaufs.....	42
4	Diskussion	44
4.1	Veränderung der Diffusionsparameter im zeitlichen Verlauf.....	44
4.1.1	Physiologische Veränderung der Diffusionsparameter während der Gehirnentwicklung bei gesunden Kontrollen	44
4.1.2	Erhöhte freie Diffusivität der Wassermoleküle bei Patienten mit metachromatischer Leukodystrophie.....	45
4.1.3	Verringerte Gerichtetheit von Faserbahnen bei Patienten mit metachromatischer Leukodystrophie.....	45
4.2	Zusammenhang der Diffusionsparameter mit den klinischen Parametern GMFC-MLD-Score und Intelligenzquotient	46
4.2.1	Motorische Einschränkungen und relevante Beeinträchtigung der Diffusion in den motorischen Arealen Zentralregion und PLIC	46
4.2.2	Intelligenzminderung und auffällige Diffusionsveränderungen in der frontalen weißen Substanz	47
4.3	Prädiktion des Krankheitsverlaufs anhand des apparenten Diffusionskoeffizienten	47
4.4	Einordnung der neuen Methode in den aktuellen Forschungsstand und den klinischen Alltag	48
4.5	Wissenschaftliche Gütekriterien.....	50
4.6	Schlussfolgerung und Ausblick	51
5	Zusammenfassung.....	52

6	Literaturverzeichnis	54
7	Erklärung zum Eigenanteil	61
8	Liste der Veröffentlichungen	62
	8.1 Wissenschaftliche Publikation	62
	8.2 Kongressbeiträge	62
	8.3 Koautorenschaften bei Kongressbeiträgen	62
	Anhang.....	63

Abkürzungsverzeichnis

ADC	apparent diffusion coefficient (deutsch: apparenter Diffusionskoeffizient)
ARSA/ASA	Arylsulfatase A
CR	Central region (deutsch: Zentralregion)
DWI	diffusion weighted imaging (deutsch: diffusionsgewichtete Bildgebung)
DTI	diffusion tensor imaging (deutsch: Diffusions – Tensor – Bildgebung)
EV	Eigenvektor
FA	fractional anisotropy (deutsch: fraktionelle Anisotropie)
FWM	frontal white matter (deutsch: frontale weiße Substanz)
GMFC-MLD	Gross - Motor - Function - Classification für MLD
HSZT	Hämatopoetische Stammzelltransplantation
IQ	Intelligenzquotient
LEUKONET	Deutsches Leukodystrophie Netzwerk
MLD	metachromatische Leukodystrophie
MRI	magnetic resonance imaging
MRT	Magnetresonanztomographie
MSC	mesenchymale Stammzelltherapie
NODDI	Neurite orientation dispersion and density imaging

PD	Privatdozent
PLIC	posterior limb of internal capsule (deutsch: hinterer Kapselschenkel der capsula interna)
ROI	region of interest (deutsch: Interessenregion)
T	Tesla (Einheit der Magnetfeldstärke)

Abbildungsverzeichnis

	<u>Seite</u>
Abbildung 1: Vorverarbeitung der Rohdaten und ROI.....	22
Abbildung 2: Region of Interest. Frontal White Matter (gelb), Central Region (grün) und PLIC (rot).....	25
Abbildung 3: Frontal White Matter in der anatomischen Sequenz. Darstellung der Region of Interest der frontalen weißen Substanz im T1 Bild.....	26
Abbildung 4: Frontal White Matter in der diffusionsgewichteten Sequenz. Darstellung der Region of Interest der frontalen weißen Substanz im ADC-Bild.....	27
Abbildung 5: Central Region in der anatomischen Sequenz. Darstellung der Region of Interest des zentralen Marklagers im T1 Bild.	28
Abbildung 6: Central Region in der diffusionsgewichteten Sequenz. Darstellung der Region of Interest der Zentralregion im ADC-Bild.....	29
Abbildung 7: PLIC in der anatomischen Sequenz. Darstellung der Region of Interest der Pyramidenbahnen im hinteren Kapselschenkel der Capsula interna im T1 Bild.	30
Abbildung 8: PLIC im Eigenvektor. Darstellung der Region of Interest im hinteren Kapselschenkel der Capsula Interna im EV-Bild ...	31
Abbildung 9: Erhöhte freie Diffusion von Wassermolekülen bei Patienten mit MLD. Darstellung anhand des apparenten Diffusionskoeffizienten in den drei ROI frontale weiße Substanz (gelb), Zentralregion (grün) und PLIC (rot). Kontrollkohorte mit gesunden Patienten (schwarz). Ebenfalls dargestellt sind die linearen Regressionsgeraden und die Konfidenzintervalle.	35
Abbildung 10: Verringerte Gerichtetheit der Faserbahnen bei Patienten mit MLD. Darstellung anhand der fraktionellen Anisotropie in den drei ROI frontale weiße Substanz (gelb), Zentralregion (grün) und PLIC (rot). Kontrollkohorte mit gesunden Patienten (schwarz). Ebenfalls dargestellt sind die linearen Regressionsgeraden und die Konfidenzintervalle	37

- Abbildung 11: Korrelationen der Diffusionsparameter ADC und FA mit dem GMFC-MLD zum Untersuchungszeitpunkt. Positive Korrelation der ADC-Werte in der Zentralregion (CR) und der PLIC mit zunehmendem GMFC-MLD-Score. Negative Korrelation der FA-Werte in der Zentralregion und der PLIC mit zunehmendem GMFC-MLD-Score. Keine signifikante Korrelation der Diffusionsparameter ADC und FA zum GMFC-MLD-Score in der frontalen weißen Substanz (FWM). $p < 0,05$ mit Sternchen gekennzeichnet. Ebenfalls dargestellt sind die linearen Regressionsgeraden und die Konfidenzintervalle. 39
- Abbildung 12: Korrelationen der Diffusionsparameter ADC und FA mit dem Intelligenzquotienten zum Untersuchungszeitpunkt. Negative Korrelation der ADC-Werte in der frontalen weißen Substanz (FWM) und der Zentralregion (CR) mit zunehmendem IQ. Positive Korrelation der FA-Werte in der frontalen weißen Substanz mit zunehmendem IQ. Keine signifikante Korrelation der Diffusionsparameter ADC und FA zum IQ in der PLIC (grün). $p < 0,05$ mit Sternchen gekennzeichnet. Ebenfalls dargestellt sind die linearen Regressionsgeraden und die Konfidenzintervalle. 41
- Abbildung 13: Prädiktion des Krankheitsverlaufs anhand der zum Diagnosezeitpunkt gemessenen ADC-Werte (Kreuze) in der Zentralregion. Unterteilung der Patienten in einen rasch-progredienten (links) und langsam-progredienten (rechts) Krankheitsverlauf. 43

Tabellenverzeichnis

	<u>Seite</u>
Tabelle 1: Patientenkollektiv mit Krankheitsverlauf und Anzahl Scans	12
Tabelle 2: GMFC-MLD nach Kehrer et al., 2011	20
Tabelle 3: Korrelation der ADC-Werte im zeitlichen Verlauf bei MLD-Patienten in den drei ROI	34
Tabelle 4: Korrelation der ADC-Werte im zeitlichen Verlauf bei gesunden Kontrollen in den drei ROI	34
Tabelle 5: Korrelation der FA-Werte im zeitlichen Verlauf bei MLD-Patienten in den drei ROI	36
Tabelle 6: Korrelation der FA-Werte im zeitlichen Verlauf bei gesunden Kontrollen in den drei ROI	37
Tabelle 7: Korrelation der ADC-Werte mit dem GMFC-MLD bei MLD-Patienten in den drei ROI	38
Tabelle 8: Korrelation der FA-Werte mit dem GMFC-MLD bei MLD-Patienten in den drei ROI	38
Tabelle 9: Korrelation der ADC-Werte mit dem IQ bei MLD-Patienten in den drei ROI	40
Tabelle 10: Korrelation der FA-Werte mit dem IQ bei MLD-Patienten in den drei ROI	40
Tabelle 11: Unterteilung der Patienten nach Krankheitsverlauf und die gemessenen ADC-Werte in der Zentralregion.....	42

1 Einleitung

1.1 Wissenschaftliche Veröffentlichungen

Die Ergebnisse dieses Promotionsprojektes und damit auch die Inhalte dieser Dissertationsschrift wurden als wissenschaftlicher Artikel unter dem Titel „Clinical significance of diffusion imaging in metachromatic leukodystrophy“ bei dem Journal *Neuropediatrics* im Mai 2023 veröffentlicht (Amedick et al., 2023). Die geteilte Erstautorenschaft haben Lucas Bastian Amedick, auch alleiniger Autor dieser Dissertationsschrift, und Dr. Pascal Martin inne. Da die in dieser Dissertationsschrift verfassten Daten, Ergebnisse und die verwendete Methodik identisch zu dem genannten und eingereichten wissenschaftlichen Artikel sind, gilt dieser Absatz als Hinweis bei der pflichtmäßigen Plagiatsprüfung.

Erste Aspekte dieses Promotionsprojektes wurden bereits auf dem DGN-Kongress „Neurowoche“ 2018 in Berlin präsentiert. Es konnte gezeigt werden, dass die Diffusionsparameter ADC und FA ergänzende neue Aspekte für den zu erwartenden Krankheitsprogress und die Therapieevaluation liefern können (Amedick et al., 2018).

1.2 Metachromatische Leukodystrophie

Die Metachromatische Leukodystrophie (MLD) ist eine progrediente neurodegenerative Erkrankung und wird den Sphingolipidosen, also lysosomalen Lipidspeicherkrankheiten, zugeordnet (Gieselmann und Krageloh-Mann, 2010). Die fehlerhafte Speicherung von Sulfatiden im zentralen und peripheren Nervensystem führt zu einer progredienten Demyelinisierung (Groeschel et al., 2012).

Diese seltene autosomal-rezessiv vererbte Form der Speichererkrankungen beeinträchtigt betroffene Patientinnen und Patienten je nach Form und Verlauf in ihrer motorischen und kognitiven Entwicklung bis hin zu deren komplettem Verlust (Gieselmann und Krägeloh-Mann, 2019).

Die weltweite Prävalenz wird mit 1:40.000 angegeben (Espejo et al., 2017). Die Inzidenz der MLD liegt in Westeuropa näherungsweise bei 0,6-1:100.000 Lebendgeburten (Heim et al., 1997) (Poorthuis et al., 1999). Die metachromatische

Leukodystrophie wird daher auch als Orphan Disease, also seltene, meist wenig untersuchte sowie häufig schwer verlaufende Erkrankung, gelistet (Groeschel et al., 2012). Bei in etwa drei diagnostizierten Neuerkrankungen pro Jahr in Deutschland ist daher von einer hohen Dunkelziffer auszugehen. Die klinischen Primärmanifestationen sind zudem zum Nachteil der Patienten nicht spezifisch und stellen meist eine Herausforderung in der Diagnostik dar (Ashrafi et al., 2020). Aus diesen Gründen werden neue Diagnostik- und Therapieschemata benötigt und erforscht.

1.2.1 Pathophysiologie und Diagnostik der MLD

Die pathophysiologische Diagnose der MLD wird anhand des Defizits der Arylsulfatase A (ARSA bzw. ASA) gestellt. Diese katalysiert in den Lysosomen der Oligodendrozyten die Hydrolysierung der sulfatierten Glycosphingolipide (Sulfatide) zu Galactocerebrosiden (Ramakrishnan et al., 2007). Bei einem ARSA-Defizit bzw. einer defekten Arylsulfatase A, oder seltener eines Mangels an Saposin B, häufen sich diese Sulfatide im Lipidspeicher der Zellen an (Gieselmann und Krägeloh-Mann, 2019).

Die Folge des Defizits der Enzyme, also die Anhäufung der Stoffwechselzwischenprodukte, kann in einem spezifischen Urintest nachgewiesen werden (Kohler et al., 2018). Dieser gilt als eines der Hauptdiagnosekriterien der MLD. Der Nachweis der ARSA-Defizienz gelingt ebenfalls bioptisch in Leukozyten und Fibroblasten (Raghavan et al., 1981).

Die lysosomale Anhäufung und Speicherung der Sulfatide führt zur Entstehung von metachromatischen Granulae in Gliazellen und Makrophagen. Da die Akkumulierung von den sauren Farbstoffen der Sulfatide unter dem Lichtmikroskop als Farbumschlag, griechisch Metachromasie, zu sehen ist, wurde diese lysosomale Speicherkrankheit metachromatische Leukodystrophie genannt (Von Hirsch und Peiffer, 1955).

Die Myelinisierung der Nervenfasern beginnt physiologisch zum Ende der Schwangerschaft, also im dritten Trimenon, und setzt sich nach Geburt weiter fort (Linderkamp et al., 2009). Bei der MLD lagern die myelinisierenden Zellen des zentralen Nervensystems, die Oligodendrozyten, die nicht verstoffwechselten Sulfatide ein (Bergner et al., 2019). Diese lysosomale Lipideinlagerung führt

dann zu einem Ausfall ihrer eigentlichen Funktion, dem Aufbau einer Myelinschicht zum Schutz der Nervenfasern und damit zu einer Demyelinisierung (Ramakrishnan et al., 2007).

Bildmorphologisch ist diese Zerstörung der weißen Substanz im MRT u.a. als T2-Hyperintensität im zentralen Marklager darstellbar (Groeschel et al., 2011). Neben dem Urintest dient der radiologische Nachweis der intrazerebralen Zerstörung der weißen Substanz als wichtiger diagnostischer Hinweis. Die häufig auch als Radialstreifung in hyperintensiven Arealen beschriebene Veränderung im MRT beruht histopathologisch auf der Demyelinisierung und der fehlerhaften Lipideinspeicherung in der weißen Substanz (van der Voorn et al., 2005).

Der Erbgang der MLD ist autosomal-rezessiv (Czmok et al., 1974). Das ARSA-Gen hat den Genlocus 22q13 (Rosenberg et al., 2016). Aktuelle Daten der genetischen Diagnostik und Forschung beschreiben mehr als 160 verschiedene Mutationen im ARSA-Gen (Gieselmann und Krägeloh-Mann, 2019). Andere Studien weisen auf 200 Alleltypen der ARSA-Mutation hin (Cesani et al., 2016). Die Feststellung weiterer Genvarianten bei Patienten mit MLD ist wichtiger Bestandteil in der weiteren Beschreibung und Erforschung dieser seltenen Krankheit (Hettiarachchi und Dissanayake, 2019).

1.2.2 Klinische Formen nach Erstmanifestation

Je nach Alter und Art der Erstmanifestation werden bei der Metachromatischen Leukodystrophie drei Verlaufsformen definiert: spät-infantil, juvenil und adult (Gieselmann und Krägeloh-Mann, 2010). Hierbei gibt es Besonderheiten bei den Primärsymptomen und der Vergleichbarkeit des Verlaufes bei ebenfalls erkrankten Geschwistern.

Bei Patienten mit der spät-infantilen Form der MLD ist ein früher Erkrankungsbeginn im Alter von weniger als 30 Monaten, meist vor dem Erreichen des dritten Lebensjahres, beschrieben. Diese Verlaufsform ist gekennzeichnet durch Stagnation und rasch progrediente Rückschritte in der motorischen und kognitiven Entwicklung in einem frühen Entwicklungsstadium mit Versterben oft im ersten Lebensjahrzehnt (Ammann-Schnell et al., 2021).

Der Verlauf bei Geschwisterkindern mit spät-infantiler MLD ist ähnlich homogen wie bei nicht-verwandten Patienten mit spät-infantiler metachromatischer Leukodystrophie (Elgün et al., 2019).

Bei Patienten mit der juvenilen Form der MLD wird je nach Beginn eine frühjuvenil (Onset meist mit 4 bis 6 Jahren) von einer spätjuvenil (Onset meist mit 6 bis 10 Jahren) Form unterschieden. Hierbei kommt es zu einem motorischen und geistigen Abbau, der langsamer progredient und etwas variabler ist als bei der spät-infantilen Form. Bei Geschwisterkindern von Patienten mit juveniler MLD, bei denen ebenfalls die Diagnose juvenile MLD gestellt wurde, wurde ebenfalls eine gewisse Variabilität beschrieben, so dass nicht allein vom Genotyp ein eindeutiger Phänotyp bezüglich erster Symptome und weiterem Krankheitsverlauf festgelegt werden kann (Elgün et al., 2019).

Patienten mit der adulten Form der MLD haben meist einen Krankheitsbeginn im fortgeschrittenen Jugendalter, respektive der frühen Adoleszenz ab 16 Jahren, mit spastischen Lähmungen und kognitiven Einschränkungen. Die Überlebenszeit kann mehrere Jahrzehnte betragen. Häufig werden Patienten mit adulter MLD mit frühbeginnender Demenz oder Schizophrenie fehldiagnostiziert, was eine höhere Dunkelziffer zur Folge hat (Kohler et al., 2018) (Kothbauer et al., 1977).

Zusammenfassend ist festzustellen, dass je früher die metachromatische Leukodystrophie klinisch relevant symptomatisch wird und je stärker die motorischen Symptome ausgeprägt sind, desto rascher progredient ist der Verlauf mit frühzeitigem Verlust der motorischen und kognitiven Fähigkeiten (Kehrer et al., 2021).

1.2.3 Symptomatik der MLD

Durch die progrediente Neurodegeneration bei zunächst sich normal entwickelnden Patienten mit metachromatischer Leukodystrophie werden die Meilensteine der kindlichen Entwicklung im Verlauf dann nicht mehr oder nur noch verspätet erreicht und wieder verlernt (Sessa et al., 2016). Hierzu zählen u.a. das freie Sitzen, Krabbeln, Hochziehen und Gehen mit Halt. Ein häufiger Erstbefund ist die motorische Verschlechterung nach einem Infekt oder der Abbau schulischer Leistungen.

Bereits im frühen Kindesalter, bei der spät-infantilen Verlaufsform, werden zunächst schlaffe, später dann spastische Paresen entwickelt, welche in eine fortschreitende Bewegungs- und Gangstörungen übergehen. Auch abnormale Bewegungsmuster sowie weitere Entwicklungsrückschritte werden bei spät-infantilen Patienten beobachtet (Gieselmann und Krageloh-Mann, 2010). Meist folgt auf ein Stadium der Stagnation ein rapider Verlust der lebensnotwendigen Körperfunktionen, dies kann u.a. bis zur Dysarthrie führen (Ammann-Schnell et al., 2021).

Bei der juvenilen Verlaufsform können sich neben den o.g. motorischen Symptomen auch primär der Verlust kognitiver Fähigkeiten und früh demenzielle Tendenzen bemerkbar machen (Schulze et al., 2015). Hier ist die Feinmotorik bei komplexeren Aufgabenmustern und die Konzentrationsfähigkeit häufig besonders betroffen (Gieselmann und Krageloh-Mann, 2010).

Meist fallen die Patienten primär in der Schule durch Gangstörungen, Nachlassen der Konzentrationsfähigkeit und Verhaltensauffälligkeiten auf. Nach einem stabilen Plateau verlieren die Patienten dann auch weitere motorische Fähigkeiten (Ammann-Schnell et al., 2021).

Das Nachlassen der Sprachfähigkeiten und die sich verschlechternden kognitiven Fähigkeiten konnten in Langzeitstudien festgehalten werden und dienen u.a. als Entscheidungshilfe für die Therapie und die Einschätzung des individuellen Verlaufs (Kehrer et al., 2014).

Bei Fortschreiten der Krankheit kann sich außerdem durch die Atrophie des Nervus opticus klinisch ein Visusverlust präsentieren, welcher die Lebensqualität weiter einschränkt (Pineles und Balcer, 2019) (Libert et al., 1979). Häufig wird im Abdomenultraschall bei Kindern mit MLD eine Choledocholithiasis mit Sludgebildung festgestellt (Kim et al., 2017). Diese Manifestationen können zu chirurgischen Interventionen, wie einer Cholezystektomie, führen.

Patienten leiden außerdem im Krankheitsverlauf an einschränkenden und fortschreitenden peripheren Neuropathien (Beerepoot et al., 2019).

1.2.4 Verlauf und Klassifizierung nach GMFC-MLD

Die Metachromatische Leukodystrophie zeigt einen stadienhaften Verlauf. Nach den bei der Erstmanifestation auffällig gewordenen Primärsymptomen stellt sich eine bis zu mehreren Jahren anhaltende Stagnation ein. Diese Plateauphase kann je nach Verlaufsform kürzer oder länger andauern (Elgün et al., 2019). Der Stagnation folgt dann eine rasche Progression mit deutlicher Verschlechterung der Symptome, bis ein stabiler Endzustand erreicht ist (Kehrer et al., 2011).

Je nach Schwere und Art der Symptome bei Krankheitsbeginn können sich schwerere und mildere Verläufe der MLD einstellen. Treten bei frühem Krankheitsbeginn bereits motorische Defizite auf, wurde ein rasch progredienter Verlauf bei Patienten mit MLD beobachtet.

Unabhängig vom Alter zum Zeitpunkt der Erstdiagnose konnte gezeigt werden, dass sich bei Patienten mit ausschließlich kognitivem Defizit zum Diagnosezeitpunkt ein milderer Verlauf der Erkrankung angeschlossen hat (Kehrer et al., 2021).

Zur Quantifizierung und Beschreibung der motorischen Funktionsfähigkeit wurde die Gross – Motor – Function – Classification für die MLD, kurz GMFC-MLD eingeführt (Kehrer et al., 2011). Diese dient bei den regelmäßigen Vorstellungen der Patienten auch zur Bewertung des klinischen Verlaufs in den verschiedenen Stadien und kann für die Therapieevaluation genutzt werden.

1.2.5 Therapieoptionen

Im folgenden Abschnitt werden verschiedene Aspekte der Erforschung von Therapieoptionen bei Metachromatischer Leukodystrophie dargestellt.

Nach einer erfolgreichen Phase 1 / 2 Studie wurde kürzlich eine (ex vivo lentivirale) Gentherapie mittels autologer Stammzelltransplantation zugelassen (Fumagalli et al., 2022). Hierbei wird ein lentiviraler Vektor genutzt, um das funktionsfähige ARSA-Enzym in hämatopoetische (autologe) Stammzellen zu integrieren und dem Patienten als Transplantat zurückzuführen (Biffi et al., 2013).

In Langzeitstudien konnte zudem ein positiver Effekt der allogenen HSZT auf die Grobmotorik, Sprachfähigkeiten und einen verringerten MRI-Score nachgewiesen werden (Groeschel et al., 2016b).

Auch ergänzende Therapiemaßnahmen, wie die Therapie mit mesenchymalen Stammzellen (MSC) nach einer HSZT, wurden als sicher getestet und von den Patienten gut vertragen (Cabanillas Stanchi et al., 2022).

Bei einem weiteren Therapiekonzept, der Enzyersatztherapie (ERT) wird das fehlende Enzym intravenös dem Patienten zugeführt und durch intrazelluläre Transportsysteme zu den Lysosomen befördert. Durch die fehlende Fähigkeit der ARSA die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden, konnte kein deutlicher Effekt bei der intravenösen Gabe erzielt werden. In klinischen Studien werden daher andere intrazerebrale Transportsysteme für die ERT getestet (van Rappard et al., 2015).

Anschließend durchgeführte klinische Studien zur intravenösen Gabe der Arylsulfatase A wurden zwar gut toleriert, erwiesen aber keinen protektiven Effekt auf die motorische und kognitive Verschlechterung im Krankheitsverlauf (Dali et al., 2021).

Einige erste präklinische Studien zeigen auch positive Aspekte einer Gentherapie, welche Adeno-assoziierte Viren nutzt (Rosenberg et al., 2016). Diese Gentherapie stellt eine neuere vielversprechende Therapieoption im Vergleich zur hämatopoetischen Stammzelltransplantation dar, bedarf allerdings noch einer Langzeitanalyse (Krageloh-Mann und Groeschel, 2016).

Als eine weitere supportive Therapieoption wird von der intrathekale Baclofentherapie zur ergänzenden Behandlung der Spastik bei Patienten mit MLD berichtet. Eine frühzeitige Hinzunahme von Baclofen kann die tägliche Pflege der Patienten verbessern (Van Der Veldt et al., 2018).

Die genannten Studien zeigen die verschiedenen Ansatzpunkte in der Entwicklung neuer Therapiekonzepte. Da die derzeitigen Optionen noch keine kausale Therapieoption darstellen, ist die Notwendigkeit der Erforschung sowohl neuer Therapie-, als auch Diagnostikkonzepte in einem früheren klinischen Stadium der Erkrankung gegeben.

1.3 Stand der Forschung

Je früher die Metachromatische Leukodystrophie diagnostiziert wird und je breiter das Wissen in der medizinischen Versorgungsinfrastruktur über mögliche Erstsymptome der MLD ist, desto eher können betroffene Patienten einer spezifischen Diagnostik zugeführt und frühzeitig eine individuelle Therapiestrategie erarbeitet werden (Kehrer et al., 2014).

Die physiologische Entwicklung der weißen Substanz kann mittels Diffusions-MRT-Bildgebung u.a. in Bezug auf Myelinisierung und Axondichte beschrieben werden. Das Wissen hierzu ist für die Detektion und Diagnostik von pathologischen Veränderungen im Gehirn von Heranwachsenden essenziell (Lebel et al., 2017). Verschiedene Forschungsgruppen weltweit untersuchen die Metachromatische Leukodystrophie anhand ihrer pathologischen neuronalen Veränderungen mit neueren bildgebenden Verfahren. Sie konnten hierbei bereits nachfolgend aufgeführte Parameter zur Quantifizierung der hirmorphologischen Veränderung untersuchen und veröffentlichen.

Der Demyelination Load wurde als nichtinvasiver volumetrischer MRT-Marker zur klinischen Verlaufsbeschreibung der Demyelinisierung und als Entscheidungshilfe zur Therapieindikation untersucht und kann als Referenzparameter genutzt werden (Groeschel et al., 2012). Außerdem dient der Demyelination Load bei Diagnosestellung als Prädiktor für den folgenden Krankheitsprogress bei juveniler MLD (Strolin et al., 2017).

In der MR-Spektroskopie sind erniedrigte N-Acetylaspartat-Peaks und erhöhte Cholin-Peaks hinweisgebend auf eine MLD (Schulze et al., 2015).

Die Veränderung der Mikrostruktur durch Verlust von Myelin und pathologisch erhöhter Einlagerung von Sulfatiden kann mittels Diffusions – Tensor – Bildgebung dargestellt werden (van Rappard et al., 2018). Diese Art der neueren diffusionsgewichteten MRT-Bildgebung kann ergänzende Biomarker für den Krankheitsverlauf hervorbringen und weitere Aspekte für die therapeutischen Evaluation liefern (Amedick et al., 2018). Die Diffusionsparameter apparenter Diffusionskoeffizient (ADC) und fraktionelle Anisotropie (FA) quantifizieren die Fähigkeit von Wassermolekülen zu diffundieren. Errechnet werden die Parameter anhand der Bewegungsmöglichkeiten der Wassermoleküle im dreidimensionalen Raum

(ADC) oder der Gerichtetheit der Diffusion entlang von Faserbahnen (FA). Dies ermöglicht interindividuelle Vergleiche und longitudinale Betrachtungen von Krankheitsprozessen (Huisman et al., 2006).

Da es bei Patienten mit spät-infantiler MLD im fortgeschrittenen Stadium allerdings auch zu einer sogenannten T2-Pseudonormalisierung in der weißen Substanz kommen kann, ist die Entwicklung von spezifischeren MRT-Protokollen neben der anatomischen Bildgebung wichtig (Martin et al., 2021).

Nebst den aktuellen Forschungsergebnissen der bildmorphologischen Veränderungen der MLD ist weiterhin die Erforschung pathogenetischer Prozesse auf Zellebene wichtig für die Entwicklung neuer Therapiekonzepte (van der Knaap und Bugiani, 2017).

Die Auswirkungen der MLD auf das Leben der betroffenen Person ist erheblich. Zu nennen sind allerdings auch die psychischen und physischen Auswirkungen auf die betreuenden Eltern und die weiteren Familienangehörigen. Hier zeigten sich eine deutliche Verminderung des individuellen Wohlergehens (Gewichtsverlust, fehlende Autonomie), herausfordernde familiäre Beziehungen sowie reduzierte soziale Kontakte (Eichler et al., 2016). Bei Eltern von an MLD erkrankten Kindern konnte außerdem gezeigt werden, dass die gesundheitsbezogene Lebensqualität signifikant reduziert war. Dies betrifft Mütter deutlich drastischer, hat aber ebenfalls deutliche Auswirkungen auf die ganze Familie (Ammann-Schnell et al., 2021).

Sowohl die deutlichen Auswirkungen auf die betroffenen Kinder und Familien als auch die sich aktuell in klinischen Studien befindlichen neuen Therapiekonzepte, machen weitere neue Forschungsprojekte zur frühzeitigeren Diagnostik der MLD unabdingbar. Optimalerweise kann eine frühzeitige Diagnose dazu führen, dass an MLD-erkrankte Kinder einer Therapie im frühen Stadium zugeführt werden können (Federico und de Visser, 2021).

1.4 Fragestellung und Hypothese

Ziel dieses Promotionsprojektes ist es, anhand von Messungen der Diffusionsparameter ADC und FA in drei verschiedenen vordefinierten anatomischen Regionen im Gehirn zum Zeitpunkt der Diagnosestellung der MLD sowie bei den regelmäßigen Folgeuntersuchungen die mikrostrukturellen Veränderungen in Korrelation zum Krankheitsverlauf und der motorischen und kognitiven Symptomatik näher zu beschreiben.

Es wird die Annahme formuliert, dass eher motorisch betroffene Patienten auffällige Diffusionsparameter in der Zentralregion und dem hinteren Kapselschenkel der Capsula interna aufweisen. Dort verlaufen Fasern des corticospinalen Traktes vom Cortex cerebri durch die Zentralregion (CR) über den hinteren Kapselschenkel der Capsula interna (PLIC) bis in das Rückenmark. Festgestellte Veränderungen und Korrelationen der Diffusionsparameter ADC und FA mit dem GMFC-MLD werden hier genauer betrachtet und analysiert.

Bei eher kognitiv betroffenen Patienten wird die Annahme formuliert, dass Veränderungen vorrangig in der frontalen weißen Substanz (FWM) messbar sind und Veränderungen sowie Korrelationen der Diffusionsparameter ADC und FA mit dem Intelligenzquotienten bestehen.

Eine weitere Fragestellung lautet, ob bei Patienten mit einem sich schnell verschlechternden Krankheitsverlauf bereits zum Zeitpunkt der Diagnose Hinweise auf diese Art des Krankheitsverlaufes durch die gemessenen Diffusionsparameter vorliegen.

Für die Evaluation neuer Therapieoptionen und zur Patientenberatung werden MRT-Verlaufparameter, wie der MRI-Score, bereits genutzt (Groeschel et al., 2011). In diesem Promotionsprojekt wird untersucht, ob die Diffusionsparameter ADC und FA als quantifizierende und prädiktive Parameter neue Aspekte in das Diagnostik- und Behandlungskonzept der MLD einfließen lassen können.

1.5 Hinweis zu gendergerechten Kollektivbezeichnungen

Dieser Absatz definiert gendergerechte Bezeichnungen für diese Dissertationsschrift. Wenn im folgenden Text von Patienten zu lesen ist, sind Patientinnen und Patienten von jedem medizinisch, biologisch definierten Geschlecht und jeder persönlich für das Individuum gewählten Geschlechts- oder Gruppenzugehörigkeit inbegriffen. Dies gilt außerdem für Ärztinnen und Ärzte, Forscherinnen und Forscher, etc. Die Grundlagen für die hier genutzten Bezeichnungen sind die während des Zeitraumes der Erstellung dieser Dissertationsschrift üblichen Formulierungen. Ziel von diesem Absatz ist es, dass sich beim Lesen Niemand diskriminiert, ausgeschlossen oder nicht beachtet fühlt. Im wissenschaftlichen Kontext wird jedoch zwischen den biologisch definierten Geschlechtern männlich und weiblich im untersuchten Kollektiv differenziert.

1.6 Lizenzen für die Verwendung von Abbildungen und Tabellen

Die hier dargestellten Abbildungen wurden eigenständig mit dem Programm JMP 16 erstellt und in dieser Form nicht anderweitig publiziert. Die Lizenzen für die Nutzung der Programme SPSS und JMP wurden von der Universität Tübingen zur Verfügung gestellt.

Die in dieser Dissertationsschrift präsentierten Ergebnisse wurden in ähnlicher Weise in dem im Mai 2023 im Journal *Neuropediatrics* publizierten Artikel mit dem Titel „Clinical significance of diffusion imaging in metachromatic leukodystrophy“ in Abbildungen dargestellt (Amedick et al., 2023). Die Freigabe zur Verwendung erfolgt durch den veröffentlichenden Verlag Thieme im Mai 2023.

Die Tabellen wurden ebenfalls eigenständig erstellt. Ausschließlich die Tabelle zur Darstellung des GMFC-MLD-Scores wurde aus der Ursprungsveröffentlichung übernommen (Kehrer et al., 2011). Die Freigabe zur Verwendung erfolgte durch den veröffentlichenden Verlag John Wiley and Sons im Mai 2023.

Die Abbildungen in dieser Dissertationsschrift enthalten beispielhafte Markierung in den betrachteten Hirnarealen aus dem Kontrollkollektiv. Aus datenschutzrechtlichen Gründen werden keine MRT-Scans von Patienten abgebildet.

2 Material und Methoden

2.1 Datengrundlage

Die MRT-Scans und die daraus errechneten Diffusionsparameter von Patienten mit metachromatischer Leukodystrophie mit dem natürlichen Krankheitsverlauf und die des Kontrollkollektivs wurden identisch vorbearbeitet, gemessen und anschließend ausgewertet. Ein Skript zur vereinheitlichten Datengewinnung sowie deren Verarbeitung und Messung wurde erstellt und die einzelnen Arbeitsschritte im Folgenden beschrieben. Das komplette Skript ist im Anhang zu finden.

2.1.1 Patientenkollektiv

Im Rahmen des Deutschen Netzwerk Leukodystrophie LEUKONET wurden seit 2006 Daten von an MLD erkrankten Patienten, mit schriftlichem Einverständnis der Eltern, gesammelt und ausgewertet (Kehrer et al., 2021) (Strolin, 2018).

Das Ethikkomitee der Eberhard Karls Universität Tübingen hat dieser Studie zugestimmt (401/2005).

Für dieses Promotionsprojekt wurden aus dem Kollektiv MRT-Scans und klinische Daten von Patienten mit dem natürlichen, nicht therapierten Krankheitsverlauf im Alter von 0,5 bis 39,9 Jahren (im Durchschnitt 6,5 Jahre) verarbeitet und ausgewertet. Insgesamt konnten 111 MRT-Scans von 83 Patienten untersucht und verarbeitet werden. Dabei zeigt Tabelle 2 die Aufteilung des Patientenkollektivs in die verschiedenen Krankheitsverläufe spät-infantil, juvenil und adult sowie die Anzahl der Datensätze bzw. Scans.

Tabelle 1: Patientenkollektiv mit Krankheitsverlauf und Anzahl Scans

Krankheitsverlauf	Anzahl Patienten	Anzahl Datensätze
Spät-infantil	35	42
Juvenil	45	66
Adult	3	3

2.1.2 Kontrollkollektiv

Die MRT-Scans der nicht an MLD-erkrankten Kontrollgruppe entstammen der C-MIND-Sammlung (Cincinnati MR Imaging of Neurodevelopment), welche von dem National Institute of Mental Health Data Archive (NDA) zur Verfügung gestellt wird (Holland und Vannest, 2015). Zum Zeitpunkt der Datenverarbeitung wurden von 120 Individuen im Alter von 0,09 bis 18,87 Jahren (Mittelwert: 8,0) insgesamt 188 MRT-Scans als Kontrolldaten verwendet. Die genauen Verweise auf die Kontroll-MRT Daten finden sich in der o.g. Veröffentlichung (Amedick et al., 2023)

2.1.3 Ein- und Ausschlusskriterien

Es wurden MRT-Scans von Patienten des natürlichen, nicht-therapierten Krankheitsverlaufs verwendet. Scans nach Therapiebeginn wurden von dieser Betrachtung ausgenommen. Einschlusskriterium ist das Defizit der ARSA als leitendes Diagnosekriterium für die MLD, welches im Urin test anhand des erhöhten Sulfatidlevels festgestellt wurde.

Von der statistischen Auswertung ausgeschlossene Daten erfüllten nicht die Kriterien der vollständigen, standardisierten Verarbeitung bis hin zur Messung in den drei definierten anatomischen Regionen.

Jegliche im Folgenden beispielhaft beschriebene Probleme an den DWI-Datensätzen oder fehlende DWI-Datensätze führten zum Ausschluss des jeweiligen MRT-Scans. Bei älteren Messungen vor den Jahren 2006 bzw. 2007 fehlten häufiger die zur Verarbeitung benötigten DWI-Daten, wie Richtungsinformationen und b-Wert. Zu Fehlermeldungen kam es bei nicht korrigierbaren Bewegungsartefakten, Maßabweichung, fehlenden Dateninformationen, fehlgeschlagener Ko-registrierung der diffusionsgewichteten ADC- und FA-Maps mit den anatomischen Datensätzen zur ROI-Setzung, fehlende b₀-Werte und Probleme bei der Generierung des Diffusionstensors.

2.1.4 Gütekriterien wissenschaftlichen Arbeitens

Durch die vereinheitlichte und prozessoptimierte Datenerhebung und Messung der Diffusionsparameter sowie die darauffolgende Auswertung und Interpretation der Messwerte soll den allgemein gültigen Gütekriterien wissenschaftlichen Arbeitens entsprochen werden (Haas-Unmussig und Schmidt, 2010). In ihrer jetzigen Form sind die aktuellen Gütekriterien weiter ausgearbeitete und angepasste Versionen aus früheren Publikationen (Lincoln et al., 1985).

In diesem Material- und Methodenteil wird das erarbeitete Konzept dargestellt und im Anhang das Skript für MRtrix (www.mrtrix.org) aufgeführt. Die Durchführung erfolgte gemäß dem in 2.5 und im Anhang dargestellten Schema und die den Ausschlusskriterien entsprochenen Daten wurden aus der Betrachtung genommen.

Abschließend wird im Diskussionsteil ein kritischer Blick auf die Einhaltung der Gütekriterien während des Promotionsprojektes geworfen und eventueller Optimierungsbedarf erläutert.

2.2 Anatomische MRT-Bildgebung

Die T1- und T2- Sequenzen stellen im Wesentlichen die anatomischen Bildinformationen des MRT-Scans dar. Ein Magnetresonanztomograph nutzt die magnetischen Eigenschaften von Wassermolekülen. Diese lassen sich durch ein äußeres Magnetfeld anregen und richten sich entlang dieses Feldes aus. Mit einer Präzessionsbewegung reagieren die Spins der Wasserstoffteilchen auf den gesetzten Impuls. Dies geschieht mit einer spezifischen Frequenz, der sog. Larmorfrequenz, auf die die moderne Bildgebung des Magnetresonanztomographen beruht (Weishaupt et al., 2014).

Die Beweglichkeit der Wassermoleküle, welche im MRT gemessen werden kann, wird durch die sich verändernde Diffusionsfähigkeit als Folge der Demyelinisierung bei der metachromatischen Leukodystrophie zu einem wichtigen quantifizierenden Merkmal.

Neben der durch klinische Tests messbaren motorischen und kognitiven Verschlechterung des Patienten und dem ARSA-Defizit werden diese Sequenzen auch zur bildgebenden Diagnostik und Einordnung der MLD genutzt.

Im eher fortgeschrittenen, also bereits klinisch mit Symptomen präsentierenden, Stadium kann die Demyelinisierung im ZNS und PNS radiologisch beschrieben werden. Im ZNS ist eine T2-Hyperintensität ein Ausdruck für diese Demyelinisierung (Groeschel et al., 2011).

2.2.1 T1-gewichtete Scans

Von einer hohen T1-Gewichtung wird gesprochen, wenn die Repetitionszeit, also die Zeit zwischen zwei Magnetisierungen einer Schicht, weniger als 600ms beträgt und eine kurze Echozeit (geringer als 15ms) gewählt wird. Die Echozeit ist das zeitliche Intervall zwischen magnetischer Anregung der Schicht und der Messung des Signals. Gewebe mit einer schnellen Relaxierung erholen sich rascher von dieser Magnetisierung und erzeugen bei erneuter Anregung ein starkes und helles Signal. Fettreiche Gewebe und knöcherne Strukturen sind daher in T1-gewichteten Scans hell dargestellt. Liquor hingegen erscheint dunkel, da die sich frei bewegenden Wassermoleküle in der kurz gewählten Messzeit noch nicht wieder relaxiert sind. Diese Sequenzen werden vorrangig für anatomische Land-

markendefinierungen genutzt, da ihr Bildkontrast zwischen grauer und weißer Substanz höher ist und MRT-Scans mit höheren Auflösungen erzeugt werden können. (Groeschel et al., 2012). Sie dienen in diesem Promotionsprojekt zur Koregistrierung mit den diffusionsgewichteten Sequenzen und als anatomische Schablone bei der Setzung der ROIs in den drei dafür vorgesehenen anatomischen Regionen. Je genauer die Setzung der ROIs durch hochauflösende Sequenzen ermöglicht werden kann, desto reproduzierbarer und genauer können die Diffusionsparameter gemessen werden.

2.2.2 T2-gewichtete Scans

Damit der MRT-Scan eine Kontrastbildung mit hoher T2-Gewichtung darstellt, wird der T1-Kontrast durch Erhöhung der Repetitionszeit auf $>2.000\text{ms}$ minimiert. Die Echozeit wird zwischen 30 und 150ms gewählt und bestimmt den Bildkontrast (Weishaupt et al., 2014). Flüssige Strukturen weisen nach beispielsweise 60ms noch eine stärker messbare Signalintensität auf als solitäre Strukturen. Liquor wird im T2-gewichteten Bild heller dargestellt als die umgebende Hirnparenchymstruktur.

Durch die Atrophie im zentralen Marklager wird bei Patienten mit metachromatischer Leukodystrophie eine charakteristische T2-Hyperintensität beschrieben (Gieselmann und Krägeloh-Mann, 2019). Die zerstörten Strukturen ermöglichen eine erhöhte Beweglichkeit der Wassermoleküle im Vergleich zu gesunden Hirnarealen im zentralen Marklager.

Im fortgeschrittenen Stadium des natürlichen Krankheitsverlaufes der MLD wird eine T2-Pseudonormalisierung beschrieben. Durch abnormale und hochpathologische Veränderungen der zerebralen Mikrostruktur wirkt der Bildkontrast pseudonormal. Im deutlich fortgeschrittenen Krankheitsstadium überwiegen die Akkumulation von Lipidstoffwechselzwischenprodukten, die Folgen der Demyelinisierung und der endgradige Verlust neuronaler Strukturen (Martin et al., 2021).

2.3 Diffusionsgewichtete MRT-Bildgebung

Der apparente Diffusionskoeffizient und die fraktionelle Anisotropie sind diffusionsgewichtete MR-Parameter zur Quantifizierung der Demyelinisierung. Der Grad der Diffusionsgewichtung des Scans wird mit dem b-Wert bemessen. Zur Generierung der ADC- und FA-Maps sind Scans mit Messprotokollen für Diffusion Weighted Imaging und Diffusion Tensor Imaging nötig. Die mittlere Schichtdicke bzw. räumliche Auflösung beträgt bei den Patientendaten 4,4mm mit einem Bereich von 2-7,2mm.

2.3.1 Maß für die Diffusionsgewichtung als b-Wert

Der sogenannte b-Wert als Maß für die Diffusionsgewichtung quantifiziert die Stärke der Diffusionsgewichtung des vorliegenden Bildkontrastes. In einer Grundlagenarbeit führten 1965 Stejskal und Tanner den Begriff b-Wert ein, welcher noch heute für die Diffusionsbildgebung eine wesentliche Rolle spielt (Stejskal und Tanner, 1965).

Je höher dieser Wert ist, desto stärker ist die Signalabschwächung durch Diffusion. Ein Scan mit einem b-Wert von 0 beinhaltet also noch viele anatomische Informationen. Es wurden vorzugsweise Sequenzen mit b-Werten $\leq 1000 \text{ s/mm}^2$ (700-1000 s/mm^2) bei dem Patientenkollektiv verwendet. Die Sequenzen des Kontrollkollektivs wurden mit einem einheitlichen b-Wert von 1000 s/mm^2 erstellt.

2.3.2 Diffusion Weighted Imaging

Durch Diffusion Weighted Imaging kann, mittels starker Echoplanarsequenzen des Magnetfeldes des MRTs, die Diffusion der Wassermoleküle abgebildet werden (Sener, 2001). Aus Sequenzen mit unterschiedlichen b-Werten können so Abbildungen der Wasserdiffusion erstellt und der ADC-Wert errechnet werden (Le Bihan, 2013).

Diese Art der Bildgebung wird im klinischen Alltag zur Diagnostik und Therapieentscheidung bei Patienten mit ischämischem Schlaganfall mittels Perfusions-Diffusions-Mismatch herangezogen. Außerdem dient sie der Einteilung von Prostataläsionen.

2.3.3 Diffusion Tensor Imaging

Das Diffusion Tensor Imaging stellt die Richtungsabhängigkeit der Diffusion dar. Hierfür werden mindestens sechs Richtungsinformationen benötigt. Eine dreimal-drei Matrix zur Beschreibung des dreidimensionalen Diffusionsverhaltens aus Eigenwerten (engl. Eigenvalues) und Eigenvektoren kann so errechnet werden. Diese modernere und datenintensivere Bildgebung dient der Generierung und Berechnung der fraktionellen Anisotropie (Groeschel et al., 2016a).

Im klinischen Alltag wird dieses bildgebende Verfahren auch bei der Frühdiagnostik des ischämischen Schlaganfalls sowie zur Operationsplanung von Hirntumoren verwendet.

2.3.4 Apparenter Diffusionskoeffizient

Der scheinbare Diffusionskoeffizient, apparent diffusion coefficient (ADC), gibt eine näherungsweise Beschreibung der Diffusivität, der Möglichkeit zur Bewegung von Wassermolekülen mit nicht-linearen Regressionsmodellen (zwei bis drei b-Werte) an. Dabei zeigt die sogenannte ADC-Map die räumliche Verteilung des apparenten Diffusionskoeffizienten als Negativbild. Hier sind also Bereiche mit hoher Diffusivität hell, Bereiche mit niedriger Diffusivität dunkel dargestellt. Aus den Datensätzen konnten 111 ADC-Maps generiert werden.

2.3.5 Fraktionelle Anisotropie

Die Fraktionelle Anisotropie (FA) beschreibt die gerichtete Diffusion beziehungsweise Kompaktheit von neuronalen Faserbahnen. Dargestellt wird die longitudinale und transversale Diffusion gerichtet entlang dieser Faserbahnen. Die FA ist also ein Indikator für die Unversehrtheit von Faserbahnen. Ein Zustand freier, also ungerichteter, Diffusion wird als Isotropie bezeichnet und ist physiologisch im Liquorraum möglich.

Aus den Datensätzen konnten 48 FA-Maps generiert werden.

2.3.6 Eigenvektor

Die Richtung der Diffusion wird durch Eigenvektoren (EV) angegeben. Diese wird im entsprechenden Bild farblich markiert. Eine Faserbahn mit transversaler, also z.B. von der linken zur rechten Hirnhemisphäre verlaufender Diffusion, wird rot dargestellt. Eine Faserbahn mit longitudinaler, also z.B. von occipital nach frontal verlaufender Diffusion, wird grün dargestellt. Eine blau dargestellte Diffusionsrichtung beschreibt Faserbahnen, welche z.B. bei axialen Schnitten aus der Bildebene hinaus oder in die Bildebene hineingehen.

Die Darstellung der Faserbahnen im Eigenvektorbild diente in diesem Promotionsprojekt der genaueren Identifikation feiner Faserbahnen im Bereich des hinteren Kapselschenkels der Capsula interna (PLIC). Hier verlaufen vorwiegend motorische Fasern des corticospinalen Traktes.

2.4 Klinische Parameter

Zur Beurteilung des klinischen Verlaufs der Patienten wurden Scores zur Einschätzung der Motorik (GMFC-MLD), des Krankheitsverlaufs und der kognitiven Fähigkeiten (IQ) verwendet.

2.4.1 GMFC-MLD

Die motorischen Fähigkeiten von Patienten mit MLD können anhand des GMFC-MLD-Scores quantifiziert werden. Eine Klassifizierung in Level 0 bedeutet vollständige Funktionsfähigkeit der Grobmotorik, also motorische Symptombefreiheit. Dahingegen wird eine Einstufung in Level 6 mit dem kompletten Verlust der grobmotorischen Fähigkeiten bewertet (Kehrer et al., 2011). Für die Beurteilung des Krankheitsverlaufs ist sowohl der GMFC-MLD Score zum Diagnosezeitpunkt sowie die Dynamik bei den Kontrolluntersuchungen entscheidend. Die Patienten wurden bei jeder Vorstellung im Krankenhaus zur Therapieevaluation und Verlaufsbeschreibung erneut mittels GMFC-MLD Score eingestuft. Es konnten 111 Scans und die zugehörigen GMFC-MLD Scores in die Datenanalyse aufgenommen werden.

In Tabelle 2 wird der GMFC-MLD, welcher ab einem Alter von 18 Monaten anwendbar ist, aufgelistet.

Tabelle 2: GMFC-MLD nach Kehrer et al., 2011

Level 0	Gehen ohne Unterstützung in altersentsprechender Qualität und Performance möglich
Level 1	Gehen ohne Unterstützung in reduzierter Qualität und Performance möglich, z.B. mit Steh-, oder Ganginstabilität
Level 2	Gehen mit Unterstützung. Ohne Unterstützung weniger als fünf Schritte freien Gehens möglich
Level 3	Sitzen ohne Unterstützung und Fortbewegung, wie z.B. Krabbeln oder Rollen, möglich. Gehen mit und ohne Unterstützung nicht möglich.
Level 4	(a) Sitzen ohne Unterstützung möglich, keine Fortbewegung möglich (b) Sitzen ohne Unterstützung nicht möglich, Fortbewegung möglich, wie z.B. Krabben oder Rollen
Level 5	Keine Fortbewegung und kein Sitzen ohne Unterstützung möglich, Kopfkontrolle erhalten
Level 6	Verlust jeder Fortbewegung, keine Kopf- oder Rumpfkontrolle

2.4.2 Krankheitsverlauf

Zusätzlich zur Schwere der Symptome kann je nach Dauer des Krankheitsfortschrittes in einen rasch progredienten und langsam progredienten Krankheitsverlauf eingeteilt werden. Patienten, bei denen weniger oder genau 27 Monate zwischen dem Progress von Level 1 zu Level 2 festgestellt werden konnte, wurden als rasch progredient eingestuft. Umgekehrt wurden Patienten, die entweder einen Progress von mehr als 27 Monate von Level 1 zu Level 2 oder länger als 27 Monate ab Krankheitsbeginn ohne Klassifikation in Level 1, also z.B. ausschließlich kognitive Symptome präsentierten, wurden als langsam progredient eingestuft (Strolin et al., 2017).

2.4.3 Intelligenzquotient

Die Messung des Intelligenzquotienten (IQ) wurde mit bereits klinisch etablierten Testungen durchgeführt. Der Wechsler Intelligence Scale for Children (WISC) wurde bei jungen, meist juvenilen, Patienten angewendet (Kaufman et al., 2016) und das Korrelat Wechsler Adult Intelligence Scale (WAIS) für erwachsene Patienten mit der adulten Form der MLD genutzt (Wechsler, 2008). Die jeweils in die deutsche Sprache übersetzten und adaptierten Versionen sind auch unter dem Namen HAWIK (Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Kinder) zu finden.

Außerdem wurde die Testung nach Kaufmann Assessment Battery for Children (KABC II) durchgeführt (Lichtenberger und Kaufman, 2010).

Die aufgeführten Tests liefern miteinander kongruente Daten und sind für die Datenanalyse verwendbar. Bei 29 Scans liegt zum Zeitpunkt der Datenanalyse eine Testung des Intelligenzquotienten vor.

2.5 Datengewinnung und -verarbeitung

2.5.1 Vorverarbeitung der Rohdaten

Zur Sicherstellung der Verwendung qualitativ gleichwertiger Sequenzen wurde bei den Datensätzen im DICOM-Format eine Fehlerkorrektur durchgeführt und in den anschließenden Schritten diffusionsgewichtete Sequenzen zur Messung der ROI genutzt.

Die Vorverarbeitung fand mit FSL (Version 5.0.9 und 5.0.10.) und MRtrix (Version 0.3.12) statt. Es wurden, wann immer möglich, hochwertige DTI bzw. DWI und alternativ Trace-Sequenzen verwendet, die die durchschnittliche Diffusion in verschiedenen Bildrichtungen abbilden.

Eine Übersicht über die verschiedenen Vorverarbeitungsschritte von den Rohdaten bis hin zur finalen ROI-Messung ist in Abbildung 1 zu sehen.

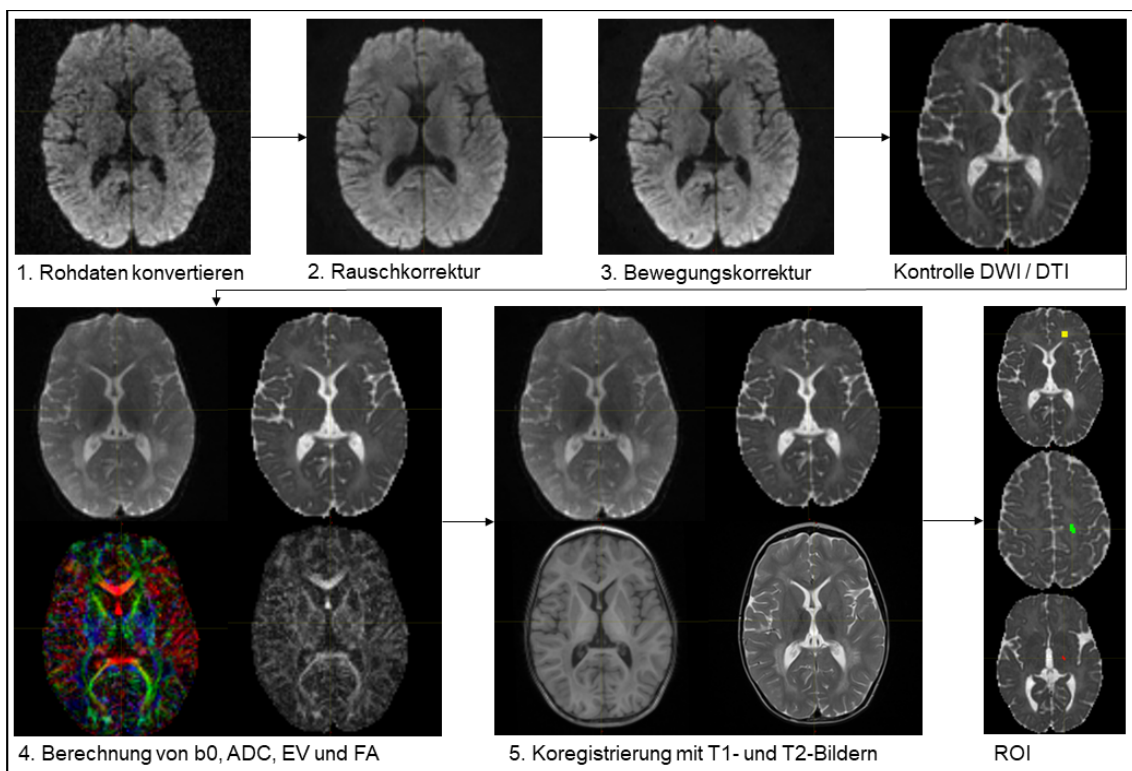


Abbildung 1: Vorverarbeitung der Rohdaten und ROI

2.5.1.1 Konvertierung der Rohdaten

Das in der medizinischen Forschung einheitlich verwendete Datenformat DICOM (Rohdaten) wurde als Standard definiert. Zur Verarbeitung der DICOM Datensätze in MRtrix wurde das Format NIFTI (.nii) benötigt. Die Konvertierung der Rohdaten in Datensätze mit diffusionsgewichteten Sequenzen erfolgte mittels MRtrix. Nach Möglichkeit wurde in das Format mit der Endung .mif konvertiert, da dieses die höchste Informationsdichte aufwies. Die für die Datenanalyse notwendigen Bildinformationen wurden jedoch auch vollumfänglich von Sequenzen mit dem Dateiformat .nii geliefert.

2.5.1.2 Rauschkorrektur

Standardmäßig wurden das Signal-zu-Rausch-Verhältnis optimiert, um Signale außerhalb des Sensitivitätsvolumens der Spule zu reduzieren. Durch Identifikation redundanter Datenpunkte konnten zum Nachbargewebe schärfer abgrenzbare Areale erzeugt werden. Die Qualität der Messung der Diffusionsparameter hängt in großem Maße von der Signalqualität des jeweiligen Bildpunktes ab.

2.5.1.3 Bewegungskorrektur

Da die Bildqualität, speziell von diffusionsgewichteten Sequenzen, stark durch Bewegungsartefakte kompromittiert wird, ist eine Bewegungskorrektur für die weitere Bildverarbeitung und -interpretation unerlässlich (Havsteen et al., 2017). Zur Reduktion der Bewegungsartefakte wurden die Sequenzen nach der Rauschkorrektur anschließend bewegungskorrigiert. Anhand des in posterior-anteriorer Richtung aufgenommenen b0-Bildes konnten verzerrt oder gedreht aufgenommene Diffusionssequenzen so korrigiert werden.

Nach den jeweiligen Konvertierungs- und Korrekturschritten wurden die Daten kontrolliert, ob sie zur Extraktion und Berechnung u.a. der ADC- und FA-Maps geeignet sind. Eine Fehlermeldung oder ein fehlerhafter Vorverarbeitungsschritt hatte nach einem Korrekturversuch den Ausschluss des Datensatzes zur Folge.

2.5.1.4 Berechnung von b0 und Generierung von ADC, FA und EV

Eine diffusionsgewichtete Sequenz mit einem b-Wert von 0 zeigt die anatomische Information der Sequenz und wird aus den vorverarbeiteten DWI-Sequenzen extrahiert.

Zusätzlich wurden die Sequenzen für den apparenten Diffusionskoeffizienten, die fraktionelle Anisotropie und der Eigenvektor als separate Datensätze, sog. Maps, mit MRtrix erzeugt. Eine ADC-Karte oder ADC-Map gibt die räumliche Verteilung des apparenten Diffusionskoeffizienten wieder. Hier werden die Areale mit pathologisch veränderter Diffusion hell dargestellt.

2.5.1.5 Koregistrierung mit T1- und T2- Bildern

Die vereinheitlichte Messung der Diffusionsparameter in den ADC- und FA-Maps in den richtigen anatomischen Regionen bedarf einer anatomischen Schablone. Die Diffusionssequenz mit der meisten anatomischen Information, in diesem Fall die generierte b0-Sequenz, ermöglicht eine sichere Koregistrierung. Unter Koregistrierung wird in diesem Fall die exakte räumliche Zuordnung von anatomischen und diffusionsgewichteten Sequenzen verstanden.

Falls eine Koregistrierung nicht durchführbar war, oder eine Fehlermeldung ausgegeben wurde, konnte als Alternative eine Transformation der T1- und T2-Sequenzen auf die b0-Sequenz durchgeführt werden.

2.5.2 ROI

Die Region of Interest (ROI) befinden sich in drei vordefinierten Zonen (Groeschel et al., 2016a). Beim Vergleich der rechten und linken Hirnhälfte liegen symmetrische Bedingungen vor. Daher wird die Messung in der anatomisch linken, meist dominanten Hirnhälfte festgelegt. Diese sind im MRT in der jeweils radiologisch rechten Hirnhälfte vorzufinden. Die drei Regionen sind die frontale weiße Substanz (Frontale White Matter, FWM), Zentralregion (Central Region, CR) und Posterior Limb of the Internal Capsule (PLIC) auf der jeweils rechten Hirnhälfte (s. Abb. 2)

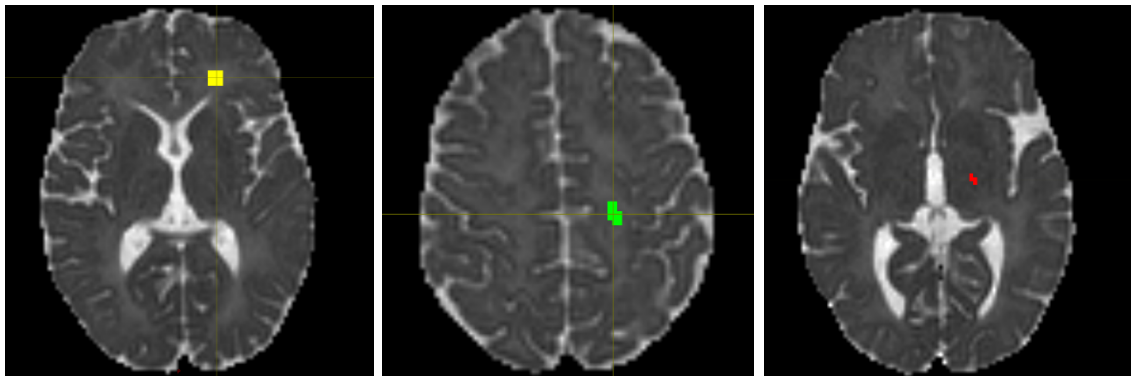


Abbildung 2: Region of Interest. Frontal White Matter (gelb), Central Region (grün) und PLIC (rot)

Voraussetzung für die Messung sind rausch- und bewegungskorrigierte DWI-Scans, die daraus errechneten FA- und ADC-Maps, EV und b₀, sowie ein mit b₀ koregistriertes T1 Bild. Wenn kein T1 zur Koregistrierung mit b₀ vorliegt, wird ein T2 Bild für die Koregistrierung zum anatomischen Abgleich herangezogen. Die ROI werden manuell mittels MRtrix (Version 0.2) in ein leeres ROI-template eingefügt. Das anatomisch koregistrierte Bild diente neben den Eigenvektor Scans der korrekten Setzung der ROI.

Zur sicheren Identifikation der ROI wurden anatomische Landmarken wie der sog. Hand Knob im Gyrus praecentralis aufgesucht. Das Buch „MRT des Zentralnervensystems“ des Thieme Verlags diente vorrangig als Nachschlagewerk bei der Abgrenzung der aufgeführten Hirnareale (Forsting und Jansen, 2014).

2.5.2.1 Frontal White Matter

Die erste Region of Interest wurde in der frontal gelegenen weißen Substanz ausgewählt. Diese befindet sich dort im Bereich des tiefen, zentralen Marklagers in der Nähe des Vorderhorns des Seitenventrikels auf der anatomisch linken Seite (s. Abb. 3). Als Leitstruktur diente das Balkenknie, lat. Genu corpus callosi. Bei der manuellen Setzung der Voxel musste darauf geachtet werden, dass keine kortiko-kortikalen Assoziationsfasern, sogenannte U-Fasern, in die ROI mit einfließen, da diese die interzerebrale Kommunikation benachbarter Areale abbilden und für die corticospinale Interaktion nachrangige Einflüsse in dieser Betrachtung liefern.

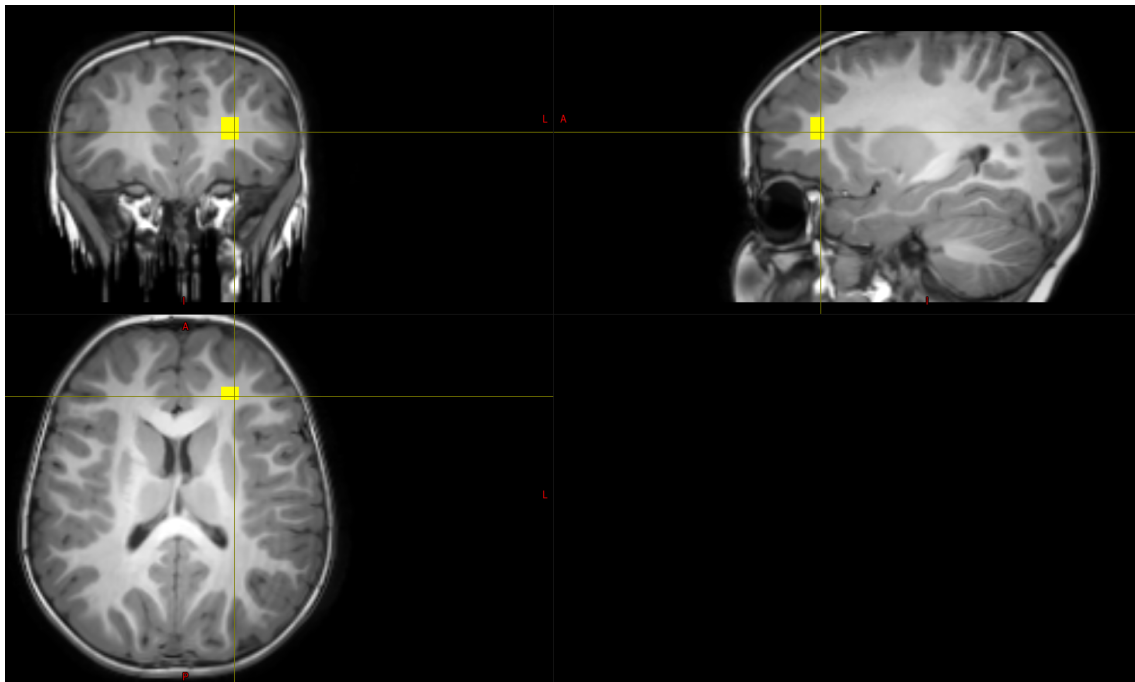


Abbildung 3: Frontal White Matter in der anatomischen Sequenz. Darstellung der Region of Interest der frontalen weißen Substanz im T1 Bild.

Eine Zielgröße von 50 – 70 Voxel, mindestens jedoch 40 Voxel, wurde definiert und als Ein- bzw. Ausschlusskriterium festgelegt. Diese ROI hat fortlaufend die Bezeichnung Frontal White Matter (FWM). Als Ziel wurde die Korrelierung der ADC- und FA-Werte (s. Abb. 3) mit den Veränderungen des Intelligenzquotienten (IQ) im Krankheitsverlauf und die Betrachtung von eher frontal betroffenen Patienten für diese ROI definiert.

Für die Korrelierung der gemessenen ADC-Werte der jeweiligen Voxel mit den funktionellen Messwerten, hier vorrangig der IQ, musste sichergestellt werden, dass die ROI korrekt markiert wurde. Da die jeweiligen Scans koregistriert wurden, konnte das T1-Bild (s. Abb. 3) als Schablone für die ROI in der ADC-Map (s. Abb. 4) herangezogen werden und die korrekte Messung der ADC-Werte in der dafür vorgesehenen anatomisch definierten Region sicherstellen.

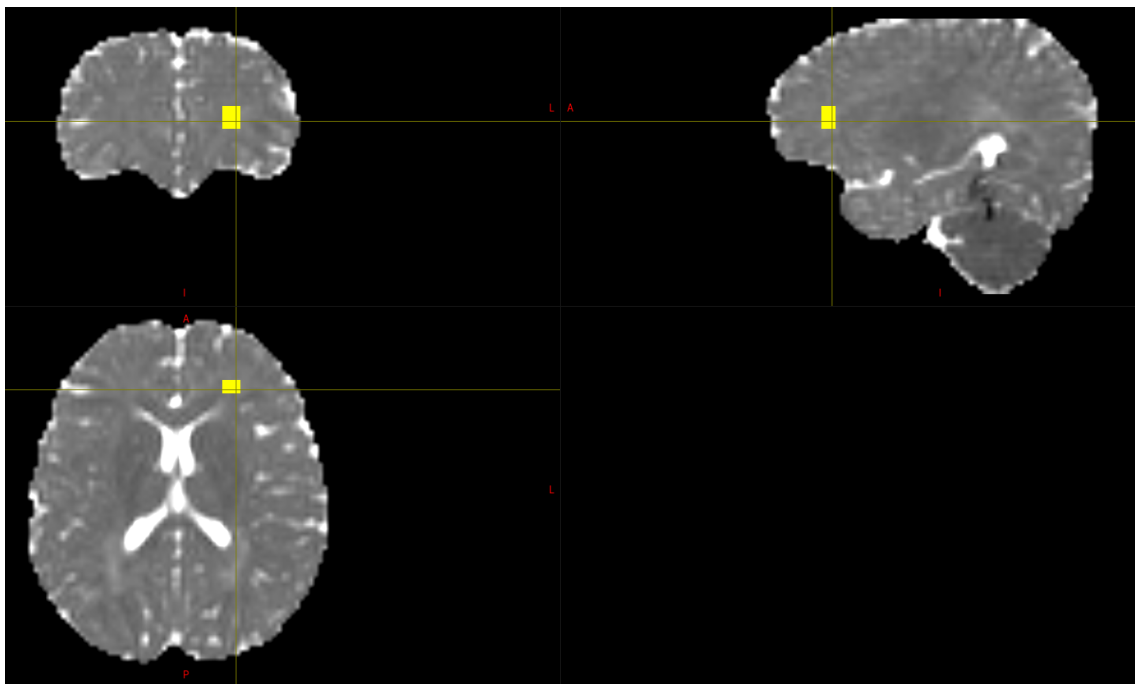


Abbildung 4: Frontal White Matter in der diffusionsgewichteten Sequenz. Darstellung der Region of Interest der frontalen weißen Substanz im ADC-Bild.

2.5.2.2 Central Region

Die zweite Region of Interest wurde in der Zentralregion gesetzt. Die primäre Identifikation des zentralen Marklagers im Bereich der motorischen Zentralregion wurde anhand des Sulcus centralis durchgeführt. Oberhalb der Seitenventrikel und des Balkens befinden sich u.a. Fasern des Cortikospinalen Traktes aus den motorischen Arealen des cerebralen Cortex. Der sogenannte Hand-Knob im Gyrus praecentralis diente neben der Fissura longitudinalis cerebri als anatomische Leitstruktur (s. Abb. 5) im T1-Scan (Willett et al., 2020). Unter Vermeidung der U-Fasern mit genügend Abstand zu Ventrikel und Cortex konnte bei der manuellen Setzung darauf geachtet werden, dass diese ROI Fasern des Corticospinalen Trakts abbildet.

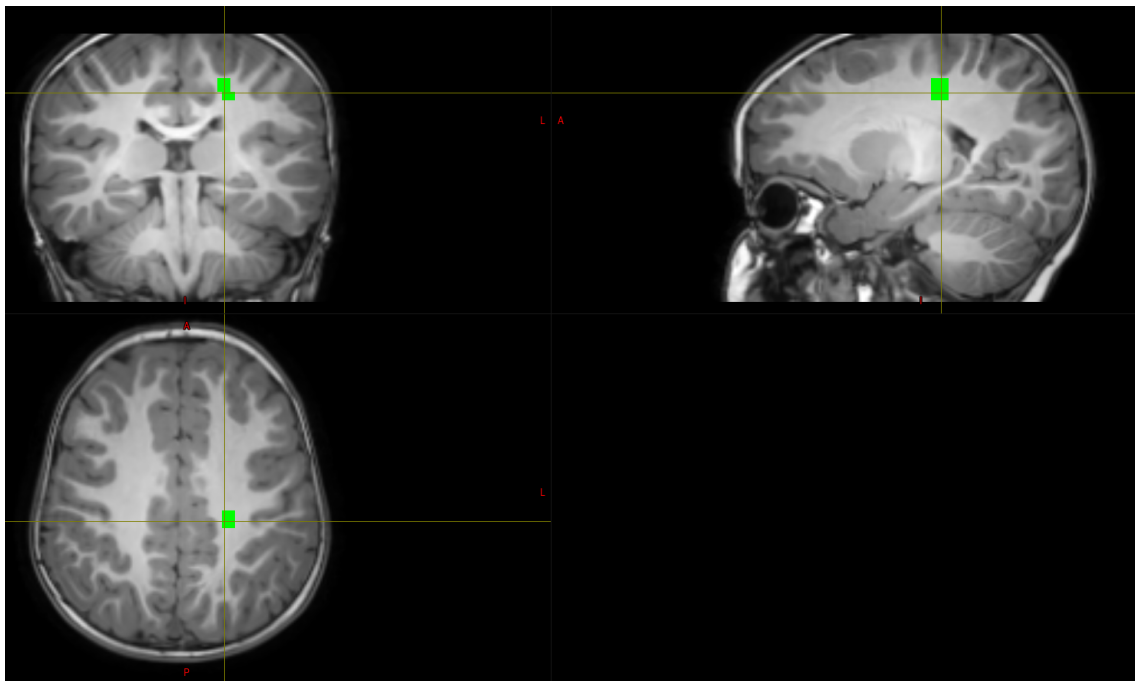


Abbildung 5: Central Region in der anatomischen Sequenz. Darstellung der Region of Interest des zentralen Marklagers im T1 Bild.

Diese ROI hat fortlaufend die Bezeichnung Central Region (CR). Zur Qualitätssicherung wurden hier ebenfalls eine Mindestanzahl von 40 Voxeln festgelegt und eine Richtgröße von 50 – 70 Voxeln für diese ROI angestrebt.

Da diese Region hauptsächlich motorische Fasern enthält, diente sie der Korrelierung von ADC- und FA-Werten (s. Abb. 6) mit dem GMFC-MLD zur Einschätzung der motorischen Veränderung im natürlichen Krankheitsverlauf. Außerdem konnten Messwerte von eher parietal betroffenen Patienten generiert werden.

Das anatomische Bild diente hier ebenfalls als Schablone zur korrekten Setzung der Voxel in der diffusionsgewichteten Sequenz.

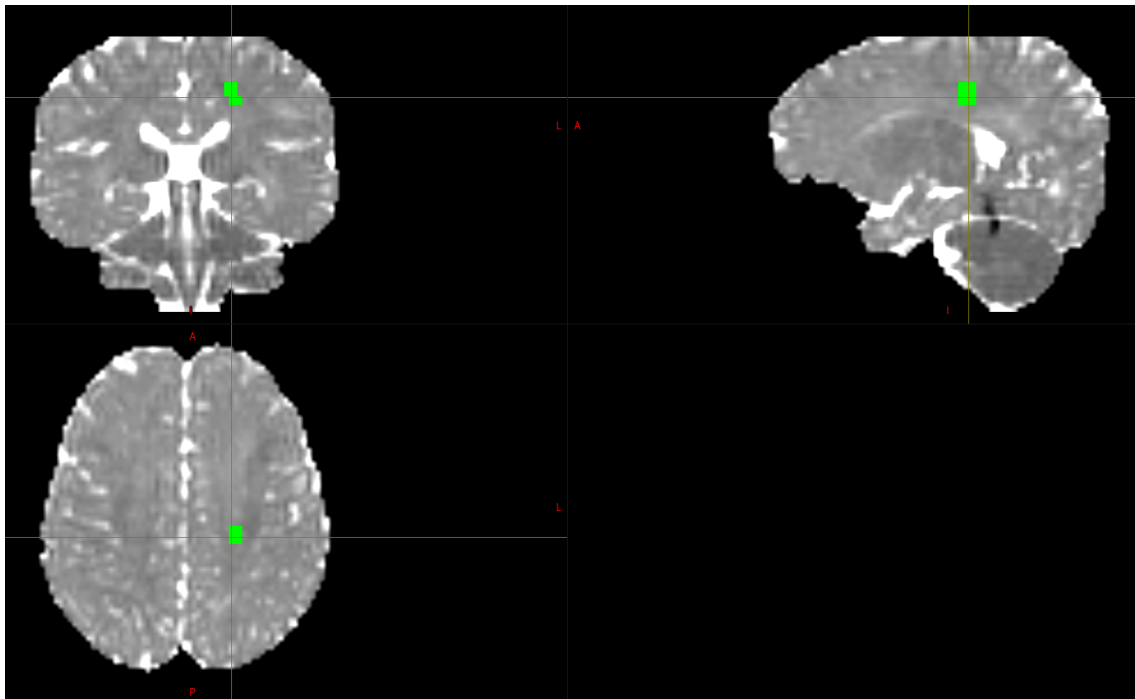


Abbildung 6: Central Region in der diffusionsgewichteten Sequenz. Darstellung der Region of Interest der Zentralregion im ADC-Bild.

2.5.2.3 PLIC

Die dritte Region of Interest wurde im Bereich des posterior limb of the capsula interna (PLIC), also dem hinteren Kapselschenkels der Capsula Interna gesetzt. Als anatomische Leitstruktur diente der dritte Ventrikel und das Pallidum posteriores. Im hinteren dritten Viertel der PLIC befinden sich Fasern des Corticospinalen Trakts (Kunar et al, 2009, AJNR). Über 2-4 Schichten wurden hier 15-20, mindestens jedoch 10, Voxel gesetzt, deren kraniale Begrenzung Putamen und Pallidum bildeten (s. Abb. 7).

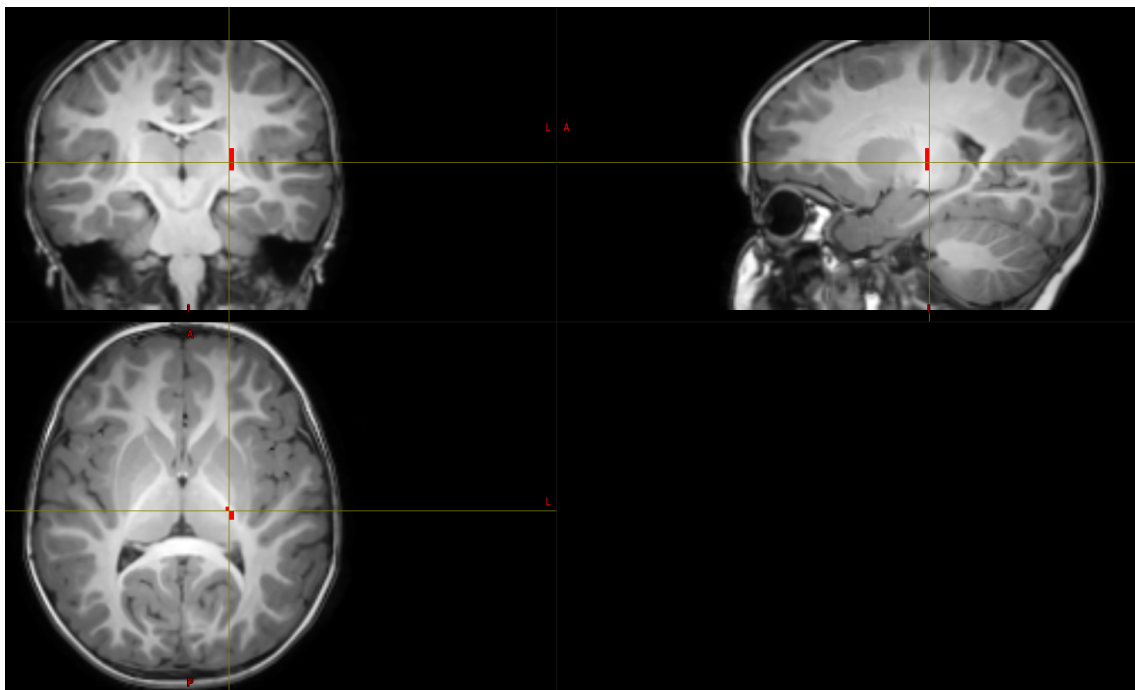


Abbildung 7: PLIC in der anatomischen Sequenz. Darstellung der Region of Interest der Pyramidenbahnen im hinteren Kapselschenkel der Capsula interna im T1 Bild.

Zur genauen Identifikation der Fasern des Corticospinalen Traktes diente das Bild des Eigenvektor (EV) (s. Abb. 8). Die in der PLIC weit hinten gelegenen Fasern sind im EV-Bild blau dargestellt, da sie die kaudale Fortsetzung der Fasern des Corticospinalen Traktes in die Pyramidenbahnen der Medulla oblongata darstellen.

Ziel war hierbei homogenere Fasern zu erfassen, welche vor allem für die Messung der FA-Werte wichtig waren und der Korrelierung mit den GMFC-MLD Werten dienten. Die anatomischen T1-Sequenzen und die Eigenvektor-Bilder dienten der anatomisch genauen Setzung dieser ROI. Die FA- und ADC- Werte wurden anschließend, genau wie in FWM und CR, in den jeweiligen diffusionsgewichteten Sequenzen gemessen.

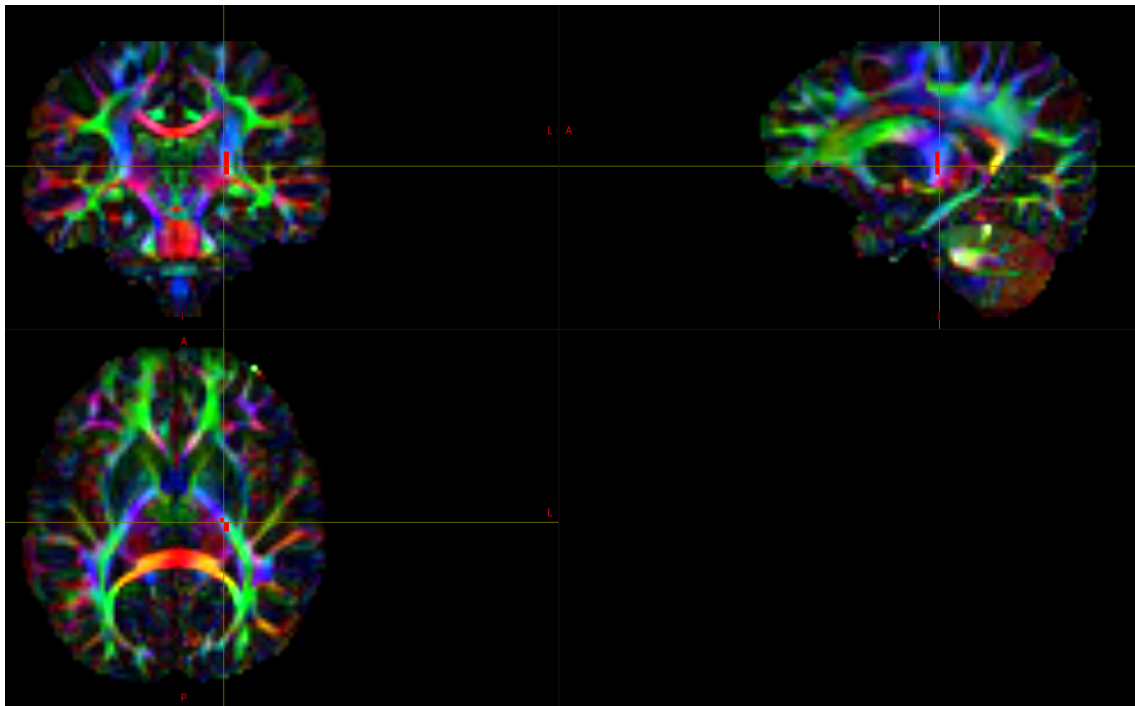


Abbildung 8: PLIC im Eigenvektor. Darstellung der Region of Interest im hinteren Kapselschenkel der Capsula Interna im EV-Bild

2.5.3 Messung der ADC- und FA-Werte in den ROI

Mit dem Programm MRtrix (Version 0.3.12) wurden aus den markierten ROI die Medianwerte für ADC und FA gemessen und in Tabellen zur anschließenden statistischen Auswertung ausgegeben.

2.6 Statistische Auswertung

Für die Interpretation der Daten wurden verschiedene statistische Tests, je nach Auswertungsziel und Skalenniveau der Daten, angewendet.

Um Aussagen über den linearen Zusammenhang der Diffusionsparameter ADC und FA mit dem Alter bei Durchführung des MRT-Scans zu treffen, wurde der Korrelationskoeffizient r nach Pearson verwendet. Positive Korrelationen sind bei einem Wert $r > 0$ und negative Korrelationen bei einem Wert $r < 0$ anzunehmen. Grafisch dienen Regressionsgeraden der Veranschaulichung der gemessenen Zusammenhänge der Daten.

Da der Intelligenzquotient ebenfalls eine kontinuierliche Variable darstellt, wurden die Korrelationen des IQ mit den Diffusionsparametern auch mit dem Korrelationskoeffizienten r nach Pearson ermittelt.

Der kategorisierende Parameter GMFC-MLD wurde mit Hilfe des Rangkoeffizienten nach Spearman Rho in Korrelation mit ADC und FA gesetzt.

Um zu untersuchen, ob der zum Diagnosezeitpunkt gemessene ADC-Wert einen Einfluss auf den sich anschließenden Krankheitsverlauf des jeweiligen Patienten hat, wurden die Daten retrospektiv untersucht. Hierfür sind Longitudinaldaten von mehr als zwei Jahren und die Einteilung in die zwei Krankheitsverläufe vorgenommen worden. Ein Patient wird in den rasch-progredienten Krankheitsverlauf eingruppiert, wenn sich die Symptome in weniger als 27 Monate von GMFC-MLD-Level 1 auf Level 2 verschlechtern. Dauert dieser Progress länger als 27 Monate an oder findet nicht statt, wird der Patient dem langsam-progredienten Krankheitsverlauf zugeordnet.

Das Signifikanzniveau für die retrospektive Betrachtung der Daten wurde mit $p < 0,05$ definiert.

3 Ergebnisse

Im folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse des Promotionsprojektes dargestellt und beschrieben. Hierbei sind die drei Schwerpunkte Veränderungen von ADC und FA im Krankheitsverlauf, Zusammenhang der Diffusionsparameter mit den klinischen Messparametern GMFC-MLD und IQ sowie Vorhersagewert der Diffusionsparameter auf den Krankheitsverlauf bei der Analyse der erhobenen Daten fokussiert betrachtet worden.

Die Ergebnisse sind ebenfalls in dem im Mai 2023 im Journal Neuropediatrics veröffentlichten wissenschaftlichen Artikel mit dem Titel „Clinical significance of diffusion imaging in metachromatic leukodystrophy“ einzusehen (Amedick et al., 2023).

3.1 Diffusionsparameter von Patienten und gesunden Kontrollprobanden im zeitlichen Verlauf

Der Vergleich der Diffusionsparameter ADC und FA von Patienten mit Diagnose MLD im Krankheitsverlauf zu den physiologischen Veränderungen von gesunden Kontrollen während der Entwicklung zeigt signifikant voneinander abweichende Werte in allen drei regions of interest frontale weiße Substanz, Zentralregion und PLIC ($p < 0,001$).

3.1.1 Zunahme des apparenten Diffusionskoeffizienten bei MLD-Patienten

Die Datengrundlage der Patientenkohorte besteht aus 111 Messwerten des apparenten Diffusionskoeffizienten in der FWM und CR sowie 100 Messwerten in der PLIC.

Die bei MLD-Patienten gemessenen ADC-Werte sind heterogener verteilt und zeigen über den zeitlichen Verlauf insgesamt tendenziell höhere Werte als bei gesunden Kontrollen. Dies ist in den drei Feldern in Abbildung 9 durch die farblich markierten Punktwolken dargestellt und zu den gesunden Kontrollen, deren Messwerte durch schwarze Punkte gezeigt werden, farblich abgegrenzt.

Die ADC-Werte der frontalen weißen Substanz von Patienten korrelieren positiv mit dem Alter ($r = 0,69$; $p = 0,002$), siehe Tabelle 3. Diese positive Korrelation ergibt einen entgegengesetzten Verlauf zu den abnehmenden ADC-Werten der FWM der gesunden Kontrollen ($r = 0,69$ bei den MLD-Patienten und $r = -0,64$ bei den gesunden Kontrollen). Die negative Korrelation der ADC-Werte zum zeitlichen Verlauf in der Zentralregion zeigt einen zu den gesunden Kontrollen ebenfalls negativen Trend, allerdings mit deutlich schwächerer Ausprägung ($r = -0,23$ bei MLD-Patienten; $r = -0,61$ bei gesunden Kontrollen). Dieser abnehmende Trend der ADC-Werte in der PLIC im zeitlichen Verlauf von MLD-Patienten ist im Vergleich zu gesunden Kontrollen grafisch darstellbar, jedoch nicht signifikant.

Tabelle 3: Korrelation der ADC-Werte im zeitlichen Verlauf bei MLD-Patienten in den drei ROI

Regions of Interest	Pearson's r	Signifikanzniveau p
Frontale weiße Substanz	0,69	0,002
Zentralregion	-0,23	0,017
PLIC	-0,05	0,628

Die ADC-Werte der 188 Messungen an gesunden Kontrollen nehmen in allen drei ROI im zeitlichen Verlauf ab. Die Korrelationskoeffizienten nach Pearson ergeben in der frontalen weißen Substanz, der Zentralregion und der PLIC negative Korrelationen im zeitlichen Verlauf (FWM: $r = -0,64$; CR: $r = -0,61$; PLIC: $r = -0,36$) auf einem Signifikanzniveau $p < 0,001$, siehe Tabelle 4.

Tabelle 4: Korrelation der ADC-Werte im zeitlichen Verlauf bei gesunden Kontrollen in den drei ROI

Regions of Interest	Pearson's r	Signifikanzniveau p
Frontale weiße Substanz	-0,64	<0,001
Zentralregion	-0,61	<0,001
PLIC	-0,36	<0,001

Die grafische Darstellung erfolgt in Abbildung 9. Die farblich markierten ADC-Werte der ROI zeigen im Vergleich zu den schwarzen ADC-Werten der Kontrollgruppe erhöhte Werte. Die abfallenden Tendenzen der ADC-Werte mit zunehmendem Alter sind bei den gesunden Kontrollen in allen drei ROI ersichtlich. Diesen Trend zeigen auch die ADC-Werte in der Zentralregion und der PLIC bei Patienten. Die ADC-Werte der Patienten in der frontalen weißen Substanz zeigen eine ansteigende Tendenz mit zunehmendem Alter.

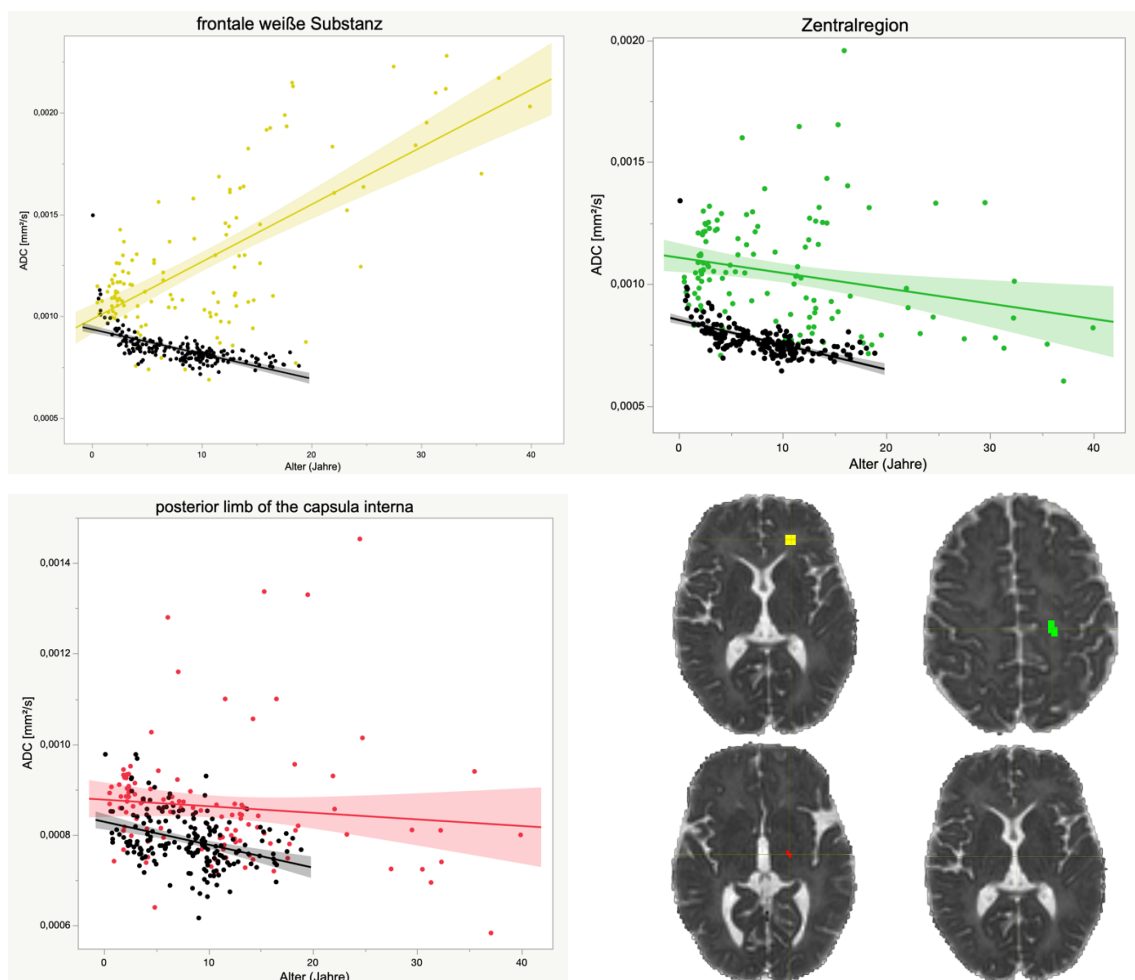


Abbildung 9: Erhöhte freie Diffusion von Wassermolekülen bei Patienten mit MLD. Darstellung anhand des apparenten Diffusionskoeffizienten in den drei ROI frontale weiße Substanz (gelb), Zentralregion (grün) und PLIC (rot). Kontrollkohorte mit gesunden Patienten (schwarz). Ebenfalls dargestellt sind die linearen Regressionsgeraden und die Konfidenzintervalle.

3.1.2 Abnahme der fraktionellen Anisotropie der Faserbahnen bei MLD-Patienten

Die Datengrundlage der Patientenkohorte besteht aus 50 Messwerten der fraktionellen Anisotropie in der FWM und CR sowie 39 Messwerten der PLIC.

Die bei MLD-Patienten gemessenen FA-Werte sind, vergleichbar zu den ADC-Werten, heterogener verteilt und zeigen über den zeitlichen Verlauf, vor allem in der frontalen weißen Substanz, tendenziell niedrigere Werte als bei gesunden Kontrollen. Dies ist in den drei Feldern in Abbildung 10 durch die farblich markierten Punktwolken dargestellt.

Die FA-Werte der frontalen weißen Substanz von Patienten korrelieren negativ mit dem Alter ($r = -0,45$; $p = 0,0012$), siehe Tabelle 5. Diese negative Korrelation zeigt einen entgegengesetzten Verlauf zu den zunehmenden FA-Werten der FWM der gesunden Kontrollen ($r = -0,45$ bei MLD-Patienten und $r = 0,41$ bei gesunden Kontrollen). Die Korrelation der FA-Werte der Zentralregion ergeben einen vergleichbaren positiven Trend im Vergleich zu den gesunden Kontrollen ($r = 0,64$ bei den MLD-Patienten, $r = 0,62$ bei den gesunden Kontrollen). Die FA-Werte in der PLIC von an MLD erkrankten Patienten haben eine positive Korrelation mit dem zeitlichen Verlauf ($r = 0,51$; $p < 0,001$).

Tabelle 5: Korrelation der FA-Werte im zeitlichen Verlauf bei MLD-Patienten in den drei ROI

Regions of Interest	Pearson's r	Signifikanzniveau p
Frontale weiße Substanz	-0,45	0,0012
Zentralregion	0,64	<0,001
PLIC	0,51	<0,001

Die FA-Werte von gesunden Kontrollen nehmen in der frontalen weißen Substanz und der Zentralregion zu. Die Korrelationskoeffizienten nach Pearson ergeben in der frontalen weißen Substanz und der Zentralregion positive Korrelationen im zeitlichen Verlauf (FWM: $r = 0,41$ und CR: $r = 0,62$) auf einem Signifikanzniveau $p < 0,001$, siehe Tabelle 6. In der PLIC zeigt sich eine negative Korrelation ($r = -0,22$; $p = 0,003$).

Tabelle 6: Korrelation der FA-Werte im zeitlichen Verlauf bei gesunden Kontrollen in den drei ROI

Regions of Interest	Pearson's r	Signifikanzniveau p
Frontale weiße Substanz	0,41	<0,001
Zentralregion	0,62	<0,001
PLIC	-0,22	0,003

Die grafische Darstellung erfolgt in Abbildung 10. Die farblich markierten FA-Werte der ROI zeigen im Vergleich zu den schwarzen FA-Werten der Kontrollgruppe tendenziell niedrigere Werte. Die ansteigenden Tendenzen der FA-Werte mit zunehmendem Alter sind bei den gesunden Kontrollen in der FWM und CR ersichtlich. In der FWM sind die FA-Werte der Patienten mit zunehmendem Alter dahingegen fallend.

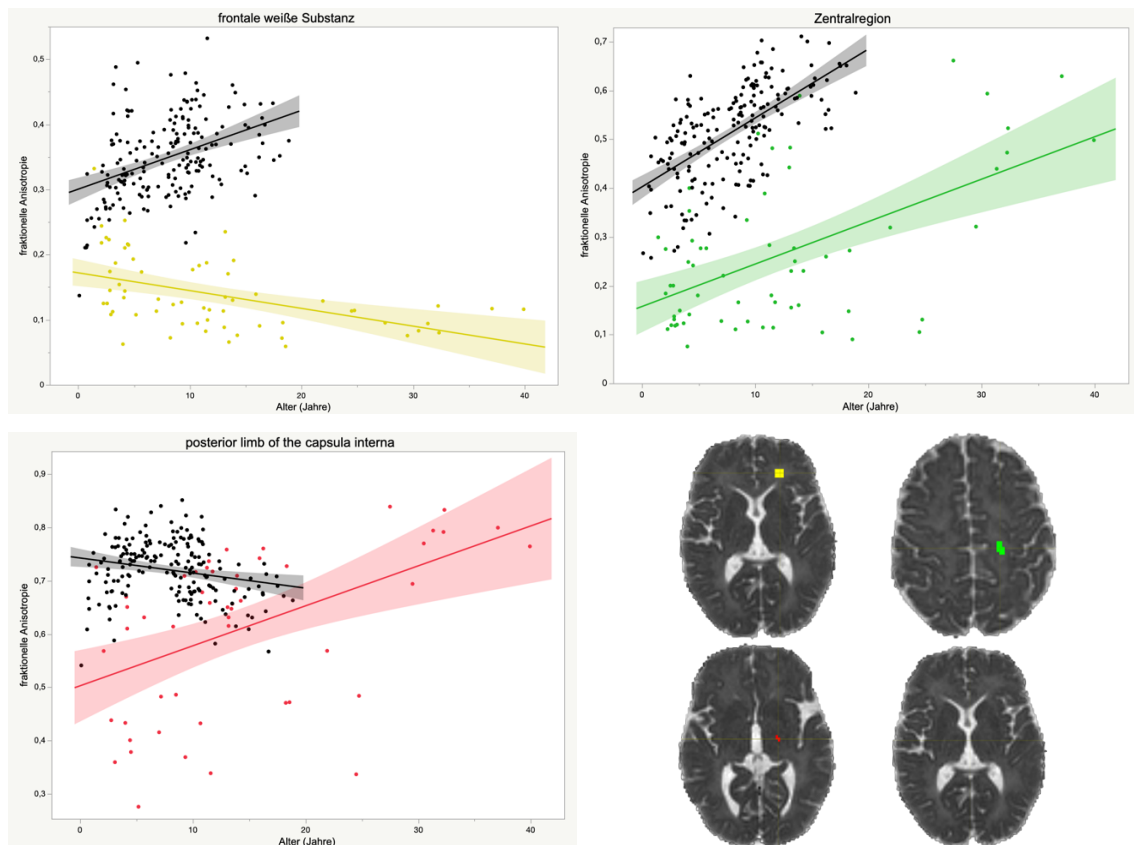


Abbildung 10: Verringerte Gerichtetheit der Faserbahnen bei Patienten mit MLD. Darstellung anhand der fraktionellen Anisotropie in den drei ROI frontale weiße Substanz (gelb), Zentralregion (grün) und PLIC (rot). Kontrollkohorte mit gesunden Patienten (schwarz). Ebenfalls dargestellt sind die linearen Regressionsgeraden und die Konfidenzintervalle

3.2 Zusammenhang der Diffusionsparameter ADC und FA mit den klinischen Parametern GMFC-MLD und Intelligenzquotient

Im folgenden Abschnitt sind die gemessenen Diffusionsparameter ADC und FA in Korrelation zu den am selben Untersuchungszeitpunkt durchgeführten Messungen des GMFC-MLD und des Intelligenzquotienten gesetzt worden.

3.2.1 GMFC-MLD und Diffusionsparameter

In der Zentralregion und dem posterior limb of the internale capsule zeigt sich eine positive Korrelation der gemessenen ADC-Werte mit dem zum Untersuchungszeitpunkt bestimmten GMFC-MLD-Score (CR: $r = 0,25$; $p = 0,014$ und PLIC: $r = 0,45$; $p < 0,001$), siehe Tabelle 7. Ein nicht signifikanter negativer Zusammenhang besteht zwischen den ADC-Werten aus der FWM zu dem gemessenen GMFC-MLD ($r = -0,15$; $p = 0,137$). Für FWM sowie CR liegen für die Auswertung 99 und für die PLIC 88 ADC-Messwerte mit den zugehörigen GMFC-MLD-Scores vor.

Tabelle 7: Korrelation der ADC-Werte mit dem GMFC-MLD bei MLD-Patienten in den drei ROI

Regions of Interest	Spearman's Rho	Signifikanzniveau p
Frontale weiße Substanz	-0,15	0,137
Zentralregion	0,25	0,014
PLIC	0,45	<0,001

Bei den gemessenen FA-Werten ergibt sich eine negative Korrelation zu dem GMFC-MLD-Score in der Zentralregion ($r = -0,65$; $p < 0,001$) und der PLIC ($r = -0,71$; $p < 0,001$). Die FA-Werte der frontalen weißen Substanz zeigen keine Korrelation zu den gemessenen GMFC-MLD-Scores. Die Ergebnisse sind in Tabelle 8 zu sehen.

Für FWM sowie CR liegen für die Auswertung 48 und für die PLIC 37 FA-Messwerte mit den zugehörigen GMFC-MLD-Scores vor.

Tabelle 8: Korrelation der FA-Werte mit dem GMFC-MLD bei MLD-Patienten in den drei ROI

Regions of Interest	Spearman's Rho	Signifikanzniveau p
Frontale weiße Substanz	0,002	0,99
Zentralregion	-0,65	<0,001
PLIC	-0,71	<0,001

Abbildung 10 stellt die Ergebnisse grafisch dar. Die zunehmenden ADC-Messwerte in der CR und PLIC sind im oberen Teil der Abbildung erkenntlich. Die entgegensetzt dazu abnehmenden FA-Werte sind im unteren Teil zu sehen.

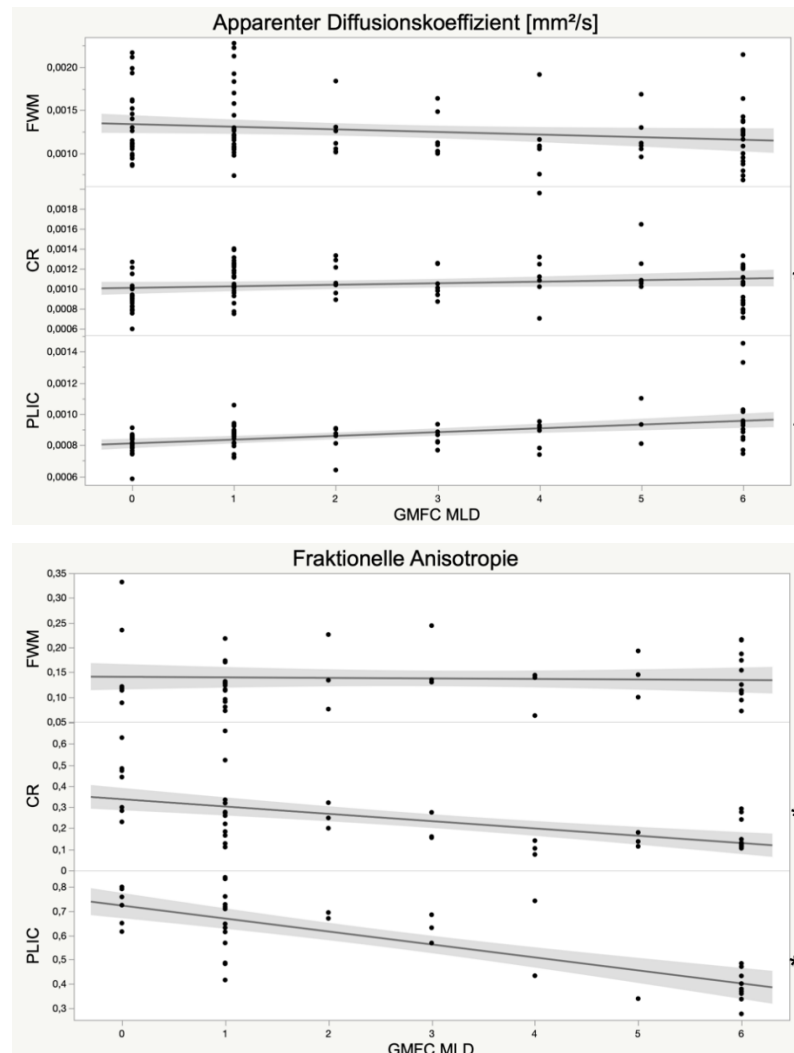


Abbildung 11: Korrelationen der Diffusionsparameter ADC und FA mit dem GMFC-MLD zum Untersuchungszeitpunkt. Positive Korrelation der ADC-Werte in der Zentralregion (CR) und der PLIC mit zunehmendem GMFC-MLD-Score. Negative Korrelation der FA-Werte in der Zentralregion und der PLIC mit zunehmendem GMFC-MLD-Score. Keine signifikante Korrelation der Diffusionsparameter ADC und FA zum GMFC-MLD-Score in der frontalen weißen Substanz (FWM). $p < 0,05$ mit Sternchen gekennzeichnet. Ebenfalls dargestellt sind die linearen Regressionsgeraden und die Konfidenzintervalle.

Bei den gemessenen Diffusionsparametern liegen signifikante, mit Sternchen gekennzeichnete, Zusammenhänge zwischen ansteigenden GMFC-MLD-Scores und jeweils zunehmenden ADC- und abnehmenden FA-Werten sowohl in der Zentralregion als auch in der PLIC vor.

3.2.2 Intelligenzquotient und Diffusionsparameter

Die gemessenen ADC-Werte bei Patienten mit MLD zeigen eine negative Korrelation mit dem IQ in der frontalen weißen Substanz ($r = -0,74$; $p < 0,001$) und der Zentralregion ($r = -0,69$; $p < 0,001$), siehe Tabelle 9. Die gemessenen ADC-Werte der PLIC ergaben keine signifikante Korrelation mit dem Intelligenzquotienten. Die Daten entstammen aus 21 Messungen von Patienten der juvenilen Form der metachromatischen Leukodystrophie, bei denen sowohl Diffusionsparameter als auch der Intelligenzquotient bei der Untersuchung gemessen wurden.

Tabelle 9: Korrelation der ADC-Werte mit dem IQ bei MLD-Patienten in den drei ROI

Regions of Interest	Pearson's r	Signifikanzniveau p
Frontale weiße Substanz	-0,74	<0,001
Zentralregion	-0,69	<0,001
PLIC	0,13	0,562

Die gemessenen FA-Werte bei Patienten mit MLD zeigen in der frontalen weißen Substanz eine positive Korrelation mit dem IQ ($r = 0,81$; $p = 0,014$). Die FA-Werte der Zentralregion und der PLIC zeigen keine Korrelation mit dem IQ, siehe Tabelle 10. Den Daten liegen acht Datensätze aus Messungen von Patienten mit der juvenilen Form der MLD zu Grunde.

Tabelle 10: Korrelation der FA-Werte mit dem IQ bei MLD-Patienten in den drei ROI

Regions of Interest	Pearson's r	Signifikanzniveau p
Frontale weiße Substanz	0,81	0,014
Zentralregion	0,27	0,51
PLIC	-0,50	0,20

Grafisch sind diese Ergebnisse ebenfalls in Abbildung 11 zu sehen. Hier sind die abnehmenden Trenddaten der ADC-Werte bei zunehmendem IQ anhand der schwarzen Linien auf der linken Seite dargestellt. Je höher demnach der gemessene ADC-Wert in der frontalen weißen Substanz und Zentralregion ist, desto tendenziell niedriger ist der IQ-Wert des jeweiligen Patienten.

Der zunehmende Trend der Werte für FA mit steigendem IQ ist durch die schwarze Linie der frontalen weißen Substanz auf der rechten Seite ersichtlich. Je höher der Intelligenzquotient, desto höher die gemessenen Werte der fraktionellen Anisotropie der Kohorte.

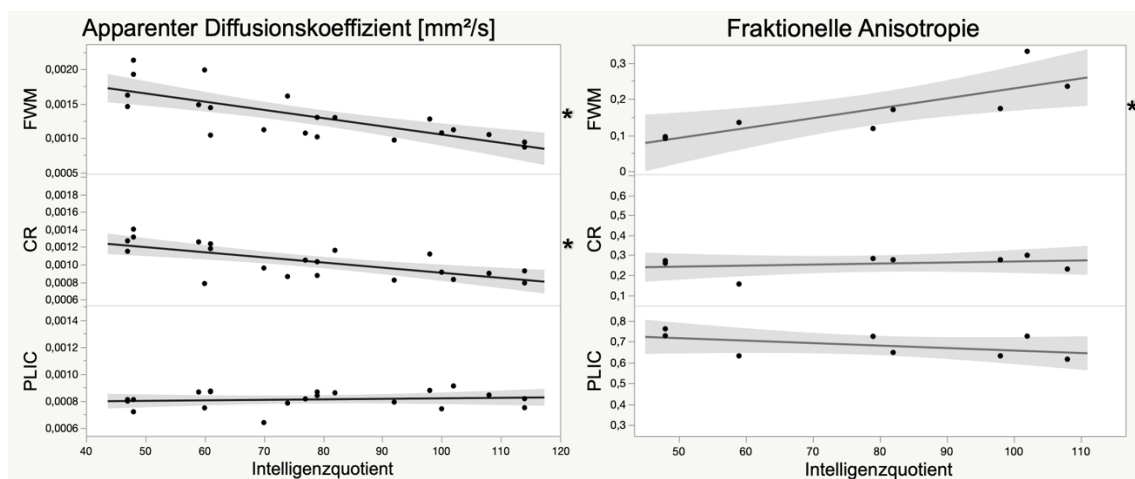


Abbildung 12: Korrelationen der Diffusionsparameter ADC und FA mit dem Intelligenzquotienten zum Untersuchungszeitpunkt. Negative Korrelation der ADC-Werte in der frontalen weißen Substanz (FWM) und der Zentralregion (CR) mit zunehmendem IQ. Positive Korrelation der FA-Werte in der frontalen weißen Substanz mit zunehmendem IQ. Keine signifikante Korrelation der Diffusionsparameter ADC und FA zum IQ in der PLIC (grün). $p < 0,05$ mit Sternchen gekennzeichnet. Ebenfalls dargestellt sind die linearen Regressionsgeraden und die Konfidenzintervalle.

In der frontalen weißen Substanz liegen also sowohl für die abnehmenden ADC- als auch für die zunehmenden FA-Werte signifikante Zusammenhänge mit den gemessenen, erhöhten IQ-Werten vor.

3.3 Prädiktion des Krankheitsverlaufs

Die Patienten wurden bei Krankheitsdiagnose sowie im Verlauf untersucht und jeweils ein MRT-Scans durchgeführt. Bei jeder Untersuchung wurden die Diffusionsparameter und die klinischen Parameter, hier insbesondere der GMFC-MLD, betrachtet und dokumentiert.

Die Zeitspanne, in der bei Patienten eine Verschlechterung des GMFC-MLD-Scores von Level 1 zu Level 2 dokumentiert wurde, wird unterteilt in einen rasch progredienten (<27 Monate) oder langsam progredienten (>27 Monate) Verlauf. Bei 19 Patienten mit der juvenilen Krankheitsform konnte zum Zeitpunkt der Diagnosestellung ein GMFC-MLD von ≤ 1 klassifiziert und die Zeitspanne der Zunahme des Scores, also klinisch motorischen Verschlechterung, festgehalten werden und sie somit in die o.g. Gruppen eingeteilt werden.

14 Patienten wurden in den langsam-progredienten und fünf Patienten in den schnell-progredienten Krankheitsverlauf eingeteilt, siehe Tabelle 11. Es zeigten sich dabei zum Diagnosezeitpunkt höhere ADC-Werte in der Zentralregion (Mittelwert 0,00109; Median 0,00116) bei den fünf Patienten des schnell-progredienten Krankheitsverlaufs als bei den 14 Patienten des langsam-progredienten Krankheitsverlaufs (Mittelwert 0,00089; Median 0,00086).

Tabelle 11: Unterteilung der Patienten nach Krankheitsverlauf und die gemessenen ADC-Werte in der Zentralregion

Krankheitsverlauf	Anzahl Patienten	Mittelwert der ADC-Werte in der Zentralregion	Median der ADC-Werte in der Zentralregion
Schnell progredient (<27 Monate)	5	0,00109	0,00116
Langsam progredient (>27 Monate)	14	0,00089	0,00086

ADC-Werte $> 0,001 \text{ mm}^2/\text{s}$ liegen mit einer Odds-Ratio von 14,4 ($p = 0,038$) bei Patienten mit dem schnell-progredienten Krankheitsverlauf bereits zu Diagnosezeitpunkt vor. Es lagen zu wenig ($n=1$) Datenpunkte für eine gleichartige Auswertung der FA-Werte zum Diagnosezeitpunkt und im Verlauf vor.

In Abbildung 12 sind die Ergebnisse grafisch dargestellt. Links sind die höheren ADC-Werte zum Diagnosezeitpunkt bei Patienten mit anschließend schnell-progredientem Krankheitsverlauf in der Zentralregion abgebildet. Auf der rechten Seite sind die niedrigeren ADC-Werte zum Diagnosezeitpunkt bei Patienten mit anschließend langsamerem Krankheitsverlauf dargestellt.

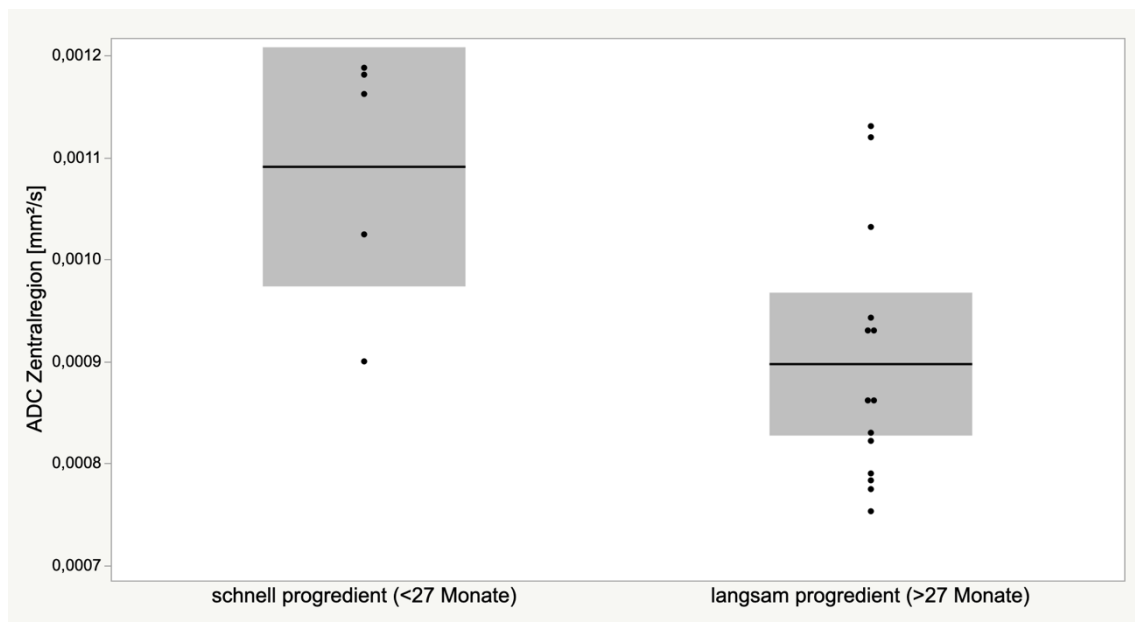


Abbildung 13: Prädiktion des Krankheitsverlaufs anhand der zum Diagnosezeitpunkt gemessenen ADC-Werte (Kreuze) in der Zentralregion. Unterteilung der Patienten in einen rasch-progredienten (links) und langsam-progredienten (rechts) Krankheitsverlauf.

Der schwarze Strich links steht für den Mittelwert der ADC-Werte = 0,00109 mm²/s der Kohorte schnell-progredienter Krankheitsverlauf bei Messung zum Zeitpunkt der Diagnose. Der schwarze Strich rechts steht für den Mittelwert der ADC-Werte = 0,00089 mm²/s der Kohorte langsam-progredienter Krankheitsverlauf bei Messung zum Diagnosezeitpunkt.

4 Diskussion

4.1 Veränderung der Diffusionsparameter im zeitlichen Verlauf

Sowohl bei Patienten mit metachromatischer Leukodystrophie als auch bei gesunden Kontrollen verändern sich mit dem Alterungsprozess die Voraussetzungen für Wassermoleküle zu diffundieren. Die physiologische Entwicklung des Gehirns sorgt für eine komplexe und gerichtete Diffusion entlang nervaler Strukturen (Lebel et al., 2017). Das Krankheitsbild der metachromatischen Leukodystrophie hat eine weniger gerichtete und damit freiere Diffusion mit den beschriebenen Symptomen zur Folge (van Rappard et al., 2018).

4.1.1 Physiologische Veränderung der Diffusionsparameter während der Gehirnentwicklung bei gesunden Kontrollen

Während der Entwicklung des kindlichen Gehirns werden die neuronalen Verbindungen zunehmenden myelinisiert. Je mehr ein Nerv myelinisiert wird, desto weniger können Wassermoleküle frei diffundieren. Sie folgen dem vorgegebenen Verlauf der nervalen Struktur. Dies führt während der Entwicklung zu einer Abnahme des apparenten Diffusionskoeffizienten, weil die freie und damit ungerichtete Diffusion durch die wachsende Myelinschicht zunehmend gehindert wird. Im Umkehrschluss wird die Diffusion der Wassermoleküle entlang einer vorgegebenen Strecke, in diesem Fall dem Verlauf z.B. des corticospinalen Traktes, zunehmend gerichteter. Die fraktionelle Anisotropie, also die Gerichtetheit der Faserbahnen nimmt zu. So sind die abnehmenden ADC- und zunehmenden FA-Werte im zeitlichen Verlauf der natürlichen und physiologischen Entwicklung des kindlichen Gehirns zu interpretieren (Reynolds et al., 2019) (Clayden et al., 2012).

Die Regressionsgerade aus den Abbildungen 9 und 10 zeigen diese physiologische Abnahme der ADC- und Zunahme der FA-Werte über einen Zeitraum von 20 Jahren. Dabei ist die größte Veränderung in den ersten Lebensjahren zu beobachten, in denen die Myelinisierung am meisten voranschreitet, vergleichbar mit longitudinalen Studiendaten von frühgeborenen Kindern (Schneider et al., 2016) und systematischen Übersichtsarbeiten (Lebel et al., 2017). Vor allem im Frontallappen kommt diese Myelinisierung jedoch selbst im Laufe der Adoleszenz nie komplett zum Abschluss.

4.1.2 Erhöhte freie Diffusivität der Wassermoleküle bei Patienten mit metachromatischer Leukodystrophie

Durch die progrediente Zerstörung der Myelinscheide bei Patienten mit metachromatischer Leukodystrophie werden Wassermoleküle zunehmend weniger daran gehindert frei zu diffundieren. Die Folge daraus ist eine erhöhte freie Diffusivität der Wassermoleküle, welches durch den apparenten Diffusionskoeffizienten quantifizierbar wird (Aung et al., 2013).

Bereits zum Diagnosezeitpunkt und auch im Vorschulalter weisen Patienten mit metachromatischer Leukodystrophie eine erhöhte freie Diffusivität der Wassermoleküle auf, siehe Abbildung 9. Sowohl in der frontalen weißen Substanz als auch in der Zentralregion und der PLIC wurden signifikant höhere und damit deutlich zu den gesunden Kontrollen abweichende ADC-Werte gemessen. Die mit dem Alter zunehmende Symptomatik kann durch die fortschreitende Demyelinisierung erklärt werden, die einerseits zu ansteigenden ADC-Werten der frontalen weißen Substanz, andererseits weniger stark abnehmenden ADC-Werten in der Zentralregion und PLIC im Vergleich zu den gesunden Kontrollen führt.

4.1.3 Verringerte Gerichtetheit von Faserbahnen bei Patienten mit metachromatischer Leukodystrophie

Das durch die MLD geschädigte kindliche Gehirn kann seltener funktionierende neuronale Verbindungen aufbauen bzw. deren Zerstörung durch die Demyelinisierung verhindern. Die eingeschränkte Konnektivität der Faserbahnen ist quantifizierbar durch die verringerte fraktionelle Anisotropie (Martin et al., 2021). So zeigen sich bereits bei frühzeitigen Messungen im jungen Alter in allen drei ROIs deutlich verringerte FA-Werte bei Patienten im Vergleich zu den gesunden Kontrollen.

Durch den Verlust von neuronalen Verbindungen sind vor allem motorisch symptomatische Patienten, die oft einen spät-infantilen oder juvenilen Verlauf aufweisen, in den motorischen Arealen Zentralregion und PLIC betroffen und weisen hier frühzeitig erniedrigte FA-Werte auf. Patienten mit der adulten Form präsentieren klinisch jedoch häufiger stärker auffallende kognitive Defizite als motorische Einschränkungen (Kohler et al., 2018). Dies geht mit den im Verlauf erniedrigten FA-Werten in der frontalen weißen Substanz einher.

4.2 Zusammenhang der Diffusionsparameter mit den klinischen Parametern GMFC-MLD-Score und Intelligenzquotient

Die Hirnareale, deren Funktionsbereiche durch die klinischen Parameter GMFC-MLD und IQ quantifizierbar sind, weisen im Vergleich zu den gesunden Kontrollen pathologisch veränderte Diffusionsparameter auf. Die hier vorgestellten ADC- und FA-Werte können neben bereits etablierten Parametern die Beschreibung und Diagnostik der MLD ergänzen.

4.2.1 Motorische Einschränkungen und relevante Beeinträchtigung der Diffusion in den motorischen Arealen Zentralregion und PLIC

Der GMFC-MLD-Score gibt reproduzierbare Auskünfte über die motorischen Einschränkungen der Patienten (Kehrer et al., 2011). Patienten mit einem niedrigen GMFC-MLD-Score von ≤ 1 und noch geringer oder nicht vorliegender motorischer Beeinträchtigung haben vergleichbar physiologische ADC- und FA-Messwerte in den motorisch relevanten Arealen. Je höher jedoch die Einstufung in den GMFC-MLD-Score erfolgt ist, also die motorische Funktionsfähigkeit deutlich abgenommen hat, desto auffälliger sind die Diffusionsparameter dort verändert. Signifikant abweichende Messwerte zu den gesunden Kontrollen ergaben sich sowohl für ADC als auch für FA, in den Regionen Zentralregion und PLIC. Die ADC-Werte, also die freie Diffusivität der Wassermoleküle, haben mit zunehmender motorischer Beeinträchtigung entlang des corticospinalen Traktes der Zentralregion und der PLIC zugenommen. Die Gerichtetheit der Faserbahnen, messbar durch die FA-Werte, nimmt mit zunehmenden motorischen Defiziten ab.

So ergeben sich Möglichkeiten die bisher klinisch genutzten Verlaufsparemeter, wie den GMFC-MLD oder den MRI MLD Score, mit weiteren Messwerten für die klinische Erforschung und Therapie der metachromatischen Leukodystrophie zu ergänzen (Beerepoot et al., 2019).

Die Betrachtung der linken Hemisphäre wurde bei der Datengewinnung definiert. Eine Beurteilung der Studienergebnisse bei Patienten, deren dominante Hemisphäre auf der rechten Seite liegt, sollte in folgenden Studien mitberücksichtigt und interpretiert werden.

4.2.2 Intelligenzminderung und auffällige Diffusionsveränderungen in der frontalen weißen Substanz

Patienten mit deutlich verringertem Intelligenzquotienten zeigen vermehrt auffällige Messwerte in der frontalen weißen Substanz. Der apparente Diffusionskoeffizient ist signifikant erhöht bei Patienten mit Intelligenzminderung, deutlich erkennbar ab einem IQ < 60. Die erhöhte freie Diffusivität in den frontalen Arealen des Gehirns lässt Rückschlüsse auf eine verminderte neuronale Konnektivität zu. Die fraktionelle Anisotropie ist bei Patienten mit verringertem IQ < 60 erniedrigt. Die Messdaten von Patienten, bei denen ein geringeres Defizit der kognitiven Leistung mit erhöhtem IQ festgestellt wurde, ergaben kongruent dazu erniedrigte ADC- und erhöhte FA-Werte in der frontalen weißen Substanz. In den eher motorisch geprägten Arealen der Zentralregion und der PLIC sind diese Tendenzen nicht zu erkennen. Lediglich in der Zentralregion besteht der Zusammenhang von erhöhten ADC-Werten bei erniedrigtem IQ, allerdings in geringerem Maße. Vergleichbare Korrelationen zeigt der in einer weiteren Studie gemessene MLD MR Severity Score, bei dem negative Korrelationen mit dem IQ festgestellt wurden (Tillema et al., 2015).

4.3 Prädiktion des Krankheitsverlaufs anhand des apparenten Diffusionskoeffizienten

Bisher gab es wenig messbare Parameter, welche einen prädiktiven Aussagewert über den weiteren Krankheitsverlauf bei Patienten mit metachromatischer Leukodystrophie hatten. Die Messung des Demyelination Load zum Diagnosezeitpunkt lässt Vorhersagen über die Schwere des Krankheitsverlaufes zu (Strolin et al., 2017). Auch der gemessene GMFC-MLD bei Erstdiagnose kann zur Einschätzung der Schwere des weiteren Krankheitsfortschrittes genutzt werden. Bereits frühzeitig auftretende motorische Symptome gehen mit einem rasch progredienten Krankheitsverlauf einher (Kehrer et al., 2021).

Ergänzend zu den beiden genannten Methoden weist der Diffusionsparameter ADC ebenfalls einen prädiktiven Wert für den Krankheitsverlauf auf.

Die Messung des apparenten Diffusionskoeffizienten wurde zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bei einem Großteil der Patienten mit der juvenilen Form der

MLD im neuropädiatrischen Zentrum durchgeführt. Folgten daraufhin noch weitere Longitudinaldaten konnten Interpretationen und Zusammenhänge über den dann stattgehabten klinischen Verlauf und gemessenen Diffusionsparameter gestellt werden (van Rappard et al., 2018).

Bei Patienten, deren initiale Messung des ADC-Wertes in der Zentralregion noch vor Ausbruch deutlich beeinträchtigender motorischer Symptome (GMFC-MLD \leq 1), einen Wert $> 0,001 \text{ mm}^2/\text{s}$ ergab, folgte meist ein schnell progredienter Krankheitsverlauf. Dieser wurde definiert als Fortschreiten von GMFC-MLD-Level 1 zu Level 2 in weniger als 27 Monaten.

Verschlechterten sich die Symptome der Patienten nach Diagnosestellung MLD weniger rasch, dauerte also der Fortschritt von GMFC-MLD-Level 1 zu Level 2 mehr als 27 Monate, konnte bei der Initialmessung ein gemittelter ADC-Wert von $< 0,001 \text{ mm}^2/\text{s}$ gemessen werden.

4.4 Einordnung der neuen Methode in den aktuellen Forschungsstand und den klinischen Alltag

Die Messung der Diffusionsparameter ADC und FA ist noch nicht Teil der standardisierten Diagnosekonzepte bzw. Leitlinien bei neuropädiatrischen Erkrankungen. Standardmäßig durchgeführte MRT-Protokolle enthalten bei der metachromatischen Leukodystrophie T1- und vor allem T2-gewichtete Sequenzen, aber auch zunehmend diffusionsgewichtete Sequenzen zur Verlaufsbeschreibung und Therapieplanung (Amedick et al., 2023). Durch logistisch und organisatorisch bedingte Gründe werden diese speziellen Messungen meist erst im fortgeschrittenen Krankheitsstadium durchgeführt. Einerseits kann nicht jeder Magnetresonanztomograph neben dem apparenten Diffusionskoeffizienten auch die fraktionelle Anisotropie messen, andererseits werden Patienten nicht direkt dieser Diagnoseform zugeführt. Gründe hierfür sind auch der Kostenpunkt der Methodik, der Stress für das Kind während der langen Messung und die Tatsache, dass die MRTs nicht an jedem Standpunkt verfügbar sind.

Bereits erhöhte ADC-Werte in den ersten MRT-Scans sind in der Regel auch dadurch zu erklären, dass die Patienten häufig erst bei auffälliger Symptomatik und nach mehreren nicht diagnosefeststellenden ärztlichen Konsultationen den

zugewiesenen neuropädiatrischen Zentren zugeführt werden können. Die dort angefertigten MRT-Scans mit Messung der Diffusionsparameter sind also selten vor klinischem Onset durchführbar. Für Geschwisterkinder von an MLD-erkrankten Patienten besteht allerdings die Möglichkeit, die Diffusionsparameter bereits vor Entwicklung erster klinischer Symptome zu messen. Die Erkenntnisse sind für die Beratung betroffener Familien wichtig (Elgün et al., 2019). Auch ist hier anhand der Gentestung und des Urintests bereits frühzeitiger eine Diagnose oder der Ausschluss der Diagnose metachromatische Leukodystrophie möglich.

Im Vergleich und als Ergänzung zu den anderen Methoden, wie z.B. der Messung des Demyelination Loads, liefert die Messung der Diffusionsparameter ADC und FA weitere deskribierende und quantifizierende Aspekte der MLD. Einerseits korrelieren die gemessenen Werte stark mit den klinischen Parametern GMFC-MLD und IQ, andererseits lässt sich ein Krankheitsverlauf eher prognostizieren, wenn bereits zum Diagnosezeitpunkt ein MRT-Scan mit Messung der ADC in der Zentralregion durchgeführt wird.

In bereits veröffentlichten Studien konnte anhand kleinerer Fallgruppen bereits die Veränderung der Diffusionsparameter ADC und FA bei Patienten mit MLD beschrieben werden (van Rappard et al., 2018). In diesem Promotionsprojekt und den daraus hervorgegangenen wissenschaftlichen Publikationen konnte verdeutlicht werden, dass die Beeinträchtigung der Diffusion der Wassermoleküle in den verschiedenen Hirnarealen quantifizierbar ist und signifikante Zusammenhänge mit der kognitiven und motorischen Symptomatik von an MLD erkrankten Patienten bestehen.

In zukünftigen Forschungsprojekten können durch die zunehmende Verfügbarkeit von diffusionsgewichteten bildgebenden Verfahren weitere klinisch relevante Erkenntnisse über Veränderungen der zerebralen Mikrostruktur bei lysosomalen Speichererkrankungen gewonnen werden (Groeschel et al., 2016a). Neben den hier beschriebenen Diffusionsparametern ADC und FA sollten dann weitere Verfahren, wie zum Beispiel neurite orientation dispersion and density imaging (NODDI), mehr Einzug in die Forschung erhalten (Martin et al., 2021)

4.5 Wissenschaftliche Gütekriterien

Gemäß der Hauptgütekriterien wissenschaftlichen Arbeitens muss dieses Promotionsprojekt bezüglich Objektivität, Reliabilität und Validität kritisch betrachtet werden, um für weitere Forschungen im Bereich Diffusionsparameter bei der metachromatischen Leukodystrophie optimierbare Aspekte erarbeiten zu können.

Durch das standardisierte Vorgehen bei der Durchführung, Auswertung und Interpretation wurden vereinheitlichte objektive Daten generiert. Jedoch bedarf die manuelle Setzung der ROI trotz definierter anatomischer Landmarken einen methodischen Optimierungsbedarf. Hier könnte künstliche Intelligenz in Form von neuronalen Netzwerken eine reproduzierbarere Datengenerierung ermöglichen. Die Reliabilität der Daten wird durch die Messgenauigkeit der Magnetresonanztomographen, die vordefinierten ROIs und die Messung der Diffusionsparameter mithilfe des Programms MRtrix gewährleistet. Kritisch betrachtet werden muss die Tatsache, dass die MRT-Sequenzen nicht nur von Geräten der Firma Siemens angefertigt wurden und die pathologisch veränderten Gehirne der Patienten interindividuelle Unterschiede aufwiesen.

Um valide Daten zu erzeugen, bedarf es Messmethoden, die genaue Informationen über das geben, was sie messen sollen. Die standardisierten Erhebungsverfahren der IQ-Tests und des GMFC-MLD-Scores erlauben diese genaue Messung der klinischen Parameter. Die Messung der Diffusionsparameter gibt genaue quantitative Informationen über die Veränderung der Beweglichkeit der Wassermoleküle als Folge der Demyelinisierung.

Da es sich bei der metachromatischen Leukodystrophie um eine äußerst seltene neuropädiatrische Erkrankung handelt, ist die Stichprobengröße gering. Außerdem mussten während der Datenerhebung und Analyse einige Daten aufgrund der o.g. Ausschlusskriterien aus der Betrachtung genommen werden. Durch das LEUKONET, den aktuellen Studienergebnissen und einem erhöhten Bewusstsein gegenüber dem Krankheitsbild kann es in Zukunft möglich werden, mehr Patientinnen und Patienten in die Studien einzubinden und weitere Aspekte über das Krankheitsbild zu erforschen. Optimalerweise werden die Patienten frühzeitig in Studienzentren eingebunden und so longitudinale Daten erfasst.

4.6 Schlussfolgerung und Ausblick

Die Messung der Diffusionsparameter ADC und FA bei Patienten mit metachromatischer Leukodystrophie kann als quantifizierender und prädiktiver Parameter bei der Diagnosestellung, Verlaufsbeurteilung und Entwicklung von Therapie- und Versorgungskonzepten dieser seltenen neuropädiatrischen Erkrankung genutzt werden.

Bereits zum Diagnosezeitpunkt und im weiteren Verlauf liegen erhöhte Werte des apparenten Diffusionskoeffizienten und verringerte Werte der fraktionellen Anisotropie bei Patienten mit metachromatischer Leukodystrophie in den pathologisch betroffenen Hirnarealen vor. Diese korrelieren in den motorischen Arealen Zentralregion und PLIC mit dem gemessenen GMFC-MLD-Level und in der frontalen weißen Substanz mit den Veränderungen des Intelligenzquotienten.

Klinisch lassen sich diese Erkenntnisse ebenfalls nutzen, ob und inwiefern ein Patient einem neuartigen Therapiekonzept zugeführt werden kann oder aufgrund des bereits vorliegenden Erkrankungsfortschrittes andere Verfahren bedacht werden müssen. Bei Geschwisterkindern in der Familie kann durch die Messung der Diffusionsparameter neben der genetischen Untersuchung die exaktere Beschreibung der Demyelinisierungsprozesse erfolgen. So kann es in Zukunft möglich werden noch asymptomatische Patienten frühzeitig behandeln zu können.

5 Zusammenfassung

Als sehr seltenes neuropädiatrisches Krankheitsbild ist die metachromatische Leukodystrophie Teil der Forschung in spezialisierten Zentren. Mit diesem Promotionsprojekt soll untersucht werden, wie die Diffusions – Tensor – Bildgebung wichtige Aspekte zur Beschreibung der MLD und zur Prädiktion des Krankheitsverlaufes beitragen kann. Diffusionsgewichtete MRT-Sequenzen geben Aufschluss über die Bewegungsmöglichkeit von Wassermolekülen sowohl in gesunden als auch in durch Demyelinisierung pathologisch veränderten neuronalen Strukturen.

Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass die Diffusionsparameter ADC und FA die pathologischen Veränderungen der zerebralen Mikrostruktur bei Patienten mit MLD quantifizieren können und bereits zum Diagnosezeitpunkt Hinweise auf die Dynamik des weiteren Krankheitsverlaufs geben können.

Für den wissenschaftlichen Vergleich wurden 188 MRT-Scans von 120 gesunden Individuen im Alter vom ersten Lebensjahr bis in die junge Adoleszenz (19. Lebensjahr) identisch zu den seit 2006 erhobenen klinischen Daten von Patienten untersucht. Es lagen zum Zeitpunkt der Datenanalyse 111 MRT-Scans von 83 Patienten im Alter von einem halben bis ca. 40 Jahren vor. Bei den Untersuchungen wurden ebenfalls die klinischen Parameter GMFC-MLD, welcher die motorische Verschlechterung im Krankheitsverlauf beschreibt, und der Intelligenzquotient erhoben.

Zur Korrelation mit der kognitiven Funktion (IQ) wurden die Diffusionsparameter in der frontalen weißen Substanz gemessen. Zur Korrelation mit der motorischen Funktion (GMFC-MLD) wurden die Diffusionsparameter in der Zentralregion gemessen. Da der hintere Kapselschenkel der Capsula interna (PLIC) homogenere Fasern unter anderem des corticospinalen Trakts aufweist, wurden auch hier die Diffusionsparameter ADC und FA gemessen und mit dem GMFC-MLD korreliert. Patienten mit MLD weisen in allen drei Hirnregionen signifikant von den gesunden Kontrollen abweichende Diffusionsparameter auf.

Bei der Messung des apparenten Diffusionskoeffizienten, welcher ein Maß für freie Diffusivität und damit Beweglichkeit der Wassermoleküle ist, konnten bei

Patienten mit MLD in allen drei Hirnregionen über den zeitlichen Verlauf hinweg erhöhte Werte festgestellt werden. Die Wassermoleküle diffundieren also in den pathologisch veränderten Hirnarealen ungehinderter als in den nicht betroffenen Arealen. Die ADC-Werte korrelieren positiv mit dem GMFC-MLD-Level in den motorischen Arealen und negativ mit dem Intelligenzquotienten in der frontalen weißen Substanz.

Der Diffusionsparameter der fraktionellen Anisotropie, also der Gerichtetheit von Faserbahnen, gibt Aufschluss über die im Krankheitsverlauf eingeschränkte Konnektivität neuronaler Strukturen. Die Messwerte sind in allen drei Hirnregionen im zeitlichen Verlauf niedriger als bei gesunden Kontrollen. Die Wassermoleküle diffundieren ungerichteter, da die durch die Demyelinisierung geschädigten Nerven keine Leitstruktur mehr darstellen. Die FA-Werte korrelieren negativ mit dem GMFC-MLD-Level in den motorischen Arealen und positiv mit dem Intelligenzquotienten in der frontalen weißen Substanz.

Für den klinischen Alltag ist die Prädiktion des Krankheitsverlaufes ein wichtiger Aspekt für die Beratung der Patienten und deren Familien sowie der Therapieplanung. Bei Patienten, bei denen sich nach Diagnosestellung einen schnell-progredienter Krankheitsverlauf manifestierte, wurde zum Diagnosezeitpunkt ein ADC-Wert $>0,001 \text{ mm}^2/\text{s}$ in der Zentralregion gemessen.

Die Diffusionsparameter ADC und FA können also einen wichtigen und klinisch relevanten Beitrag zur Quantifizierung der zerebralen Mikrostruktur von Patienten mit MLD geben und prädiktive Aussagen über den Krankheitsverlauf treffen.

6 Literaturverzeichnis

- AMEDICK, L. B., KEHRER, C., BESCHLE, J., STRÖLIN, M., WILKE, M., WOLF, N., HAGBERG, G., KLOSE, U., NÄGELE, T., KRÄGELOH-MANN, I. & GRÖSCHEL, S. 2018. FV 948. Diffusion Tensor Imaging Parameters in Metachromatic Leukodystrophy: Biomarkers for Disease Progress and Therapeutically Therapeutic Evaluation. *Neuropediatrics*, 49, FV948.
- AMEDICK, L. B., MARTIN, P., BESCHLE, J., STRÖLIN, M., WILKE, M., WOLF, N., POUWELS, P., HAGBERG, G., KLOSE, U., NÄGELE, T., KRÄGELOH-MANN, I. & GROESCHEL, S. 2023. Clinical significance of diffusion tensor imaging in metachromatic leukodystrophy. *Neuropediatrics*, 0.
- AMMANN-SCHNELL, L., GROESCHEL, S., KEHRER, C., FROLICH, S. & KRÄGELOH-MANN, I. 2021. The impact of severe rare chronic neurological disease in childhood on the quality of life of families-a study on MLD and PCH2. *Orphanet J Rare Dis*, 16, 211.
- ASHRAFI, M. R., AMANAT, M., GARSHASBI, M., KAMELI, R., NILIPOUR, Y., HEIDARI, M., REZAEI, Z. & TAVASOLI, A. R. 2020. An update on clinical, pathological, diagnostic, and therapeutic perspectives of childhood leukodystrophies. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 20, 65-84.
- AUNG, W. Y., MAR, S. & BENZINGER, T. L. 2013. Diffusion tensor MRI as a biomarker in axonal and myelin damage. *Imaging Med*, 5, 427-440.
- BEEREPOOT, S., NIERKENS, S., BOELENS, J. J., LINDEMANS, C., BUGIANI, M. & WOLF, N. I. 2019. Peripheral neuropathy in metachromatic leukodystrophy: current status and future perspective. *Orphanet J Rare Dis*, 14, 240.
- BERGNER, C. G., VAN DER MEER, F., WINKLER, A., WRZOS, C., TÜRKMEN, M., VALIZADA, E., FITZNER, D., HAMETNER, S., HARTMANN, C., PFEIFENBRING, S., STOLTENBURG-DIDINGER, G., BRÜCK, W., NESSLER, S. & STADELMANN, C. A.-O. 2019. Microglia damage precedes major myelin breakdown in X-linked adrenoleukodystrophy and metachromatic leukodystrophy.
- BIFFI, A., MONTINI, E., LORIOLI, L., CESANI, M., FUMAGALLI, F., PLATI, T., BALDOLI, C., MARTINO, S., CALABRIA, A., CANALE, S., BENEDICENTI, F., VALLANTI, G., BIASCO, L., LEO, S., KABBARA, N., ZANETTI, G., RIZZO, W. B., MEHTA, N. A., CICALESE, M. P., CASIRAGHI, M., BOELENS, J. J., DEL CARRO, U., DOW, D. J., SCHMIDT, M., ASSANELLI, A., NEDUVA, V., DI SERIO, C., STUPKA, E., GARDNER, J., VON KALLE, C., BORDIGNON, C., CICERI, F., ROVELLI, A., RONCAROLO, M. G., AIUTI, A., SESSA, M. & NALDINI, L. 2013. Lentiviral hematopoietic stem cell gene therapy benefits metachromatic leukodystrophy. *Science*, 341, 1233158.
- CABANILLAS STANCHI, K. M., BÖHRINGER, J., STRÖLIN, M., GROESCHEL, S., LENGlinger, K., TREUNER, C., KEHRER, C., LAUGWITZ, L., BEVOT, A., KAISER, N., SCHUMM, M., LANG, P., HANDGRETINGER,

- R., KRÄGELOH-MANN, I., MÜLLER, I. & DÖRING, M. 2022. Hematopoietic Stem Cell Transplantation with Mesenchymal Stromal Cells in Children with Metachromatic Leukodystrophy. *Stem Cells Dev*, 31, 163-175.
- CESANI, M., LORIOLI, L., GROSSI, S., AMICO, G., FUMAGALLI, F., SPIGA, I., FILOCAMO, M. & BIFFI, A. 2016. Mutation Update of ARSA and PSAP Genes Causing Metachromatic Leukodystrophy. *Hum Mutat*, 37, 16-27.
- CLAYDEN, J. D., JENTSCHKE, S., MUÑOZ, M., COOPER, J. M., CHADWICK, M. J., BANKS, T., CLARK, C. A. & VARGHA-KHADEM, F. 2012. Normative development of white matter tracts: similarities and differences in relation to age, gender, and intelligence. *Cereb Cortex*, 22, 1738-47.
- CZMOK, E., REGLI, F., HARZER, K. & BENZ, H. U. 1974. Metachromatische Leukodystrophie. *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten*, 219, 369-375.
- DALI, C. I., GROESCHEL, S., MOLDOVAN, M., FARAH, M. H., KRAGELOH-MANN, I., WASILEWSKI, M., LI, J., BARTON, N. & KRARUP, C. 2021. Intravenous arylsulfatase A in metachromatic leukodystrophy: a phase 1/2 study. *Ann Clin Transl Neurol*, 8, 66-80.
- EICHLER, F. S., COX, T. M., CROMBEZ, E., DALI, C. I. & KOHLSCHUTTER, A. 2016. Metachromatic Leukodystrophy: An Assessment of Disease Burden. *J Child Neurol*, 31, 1457-1463.
- ELGÜN, S., WAIBEL, J., KEHRER, C., VAN RAPPARD, D., BÖHRINGER, J., BECK-WÖDL, S., JUST, J., SCHÖLS, L., WOLF, N., KRÄGELOH-MANN, I. & GROESCHEL, S. 2019. Phenotypic variation between siblings with Metachromatic Leukodystrophy. *Orphanet journal of rare diseases*, 14, 136-136.
- ESPEJO, L. M., DE LA ESPRIELLA, R. & HERNÁNDEZ, J. F. 2017. Metachromatic leukodystrophy. Case presentation. *Revista Colombiana de Psiquiatría (English ed.)*, 46, 44-49.
- FEDERICO, A. & DE VISSER, M. 2021. New disease modifying therapies for two genetic childhood-onset neurometabolic disorders (metachromatic leucodystrophy and adrenoleucodystrophy). *Neurol Sci*, 42, 2603-2606.
- FORSTING, M. & JANSEN, O. 2014. MRT des Zentralnervensystems. In: FORSTING, M. & JANSEN, O. (eds.). Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG.
- FUMAGALLI, F., CALBI, V., NATALI SORA, M. G., SESSA, M., BALDOLI, C., RANCOITA, P. M. V., CIOTTI, F., SARZANA, M., FRASCHINI, M., ZAMBON, A. A., 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, E. S., MORENA, F., SILVANI, P., CALVI, M. R., FACCHINI, M., LOCATELLI, S., CORTI, A., ZANCAN, S., ANTONIOLI, G., FARINELLI, G., GABALDO, M., GARCIA-SEGOVIA, J., SCHWAB, L. C., DOWNEY, G. F., FILIPPI, M., CICALESSE, M. P., MARTINO, S., DI SERIO, C., CICERI, F., BERNARDO, M. E., NALDINI, L., BIFFI, A. & AIUTI, A. 2022. 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. *The Lancet*, 399, 372-383.
- GIESELMANN, V. & KRAGELOH-MANN, I. 2010. Metachromatic leukodystrophy--an update. *Neuropediatrics*, 41, 1-6.
- GIESELMANN, V. & KRÄGELOH-MANN, I. 2019. Metachromatic Leukodystrophy. In: VALLE, D. L., ANTONARAKIS, S., BALLABIO, A., BEAUDET, A. L. & MITCHELL, G. A. (eds.) *The Online Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. New York, NY: McGraw-Hill Education.
- GROESCHEL, S., HAGBERG, G. E., SCHULTZ, T., BALLA, D. Z., KLOSE, U., HAUSER, T. K., NAGELE, T., BIERI, O., PRASLOSKI, T., MACKAY, A. L., KRAGELOH-MANN, I. & SCHEFFLER, K. 2016a. Assessing White Matter Microstructure in Brain Regions with Different Myelin Architecture Using MRI. *PLoS One*, 11, e0167274.
- GROESCHEL, S., DALI, C., CLAS, P., BOHRINGER, J., DUNO, M., KRARUP, C., KEHRER, C., WILKE, M. & KRAGELOH-MANN, I. 2012. Cerebral gray and white matter changes and clinical course in metachromatic leukodystrophy. *Neurology*, 79, 1662-70.
- GROESCHEL, S., KEHRER, C., ENGEL, C., C, I. D., BLEY, A., STEINFELD, R., GRODD, W. & KRAGELOH-MANN, I. 2011. Metachromatic leukodystrophy: natural course of cerebral MRI changes in relation to clinical course. *J Inherit Metab Dis*, 34, 1095-102.
- GROESCHEL, S., KUHL, J. S., BLEY, A. E., KEHRER, C., WESCHKE, B., DORING, M., BOHRINGER, J., SCHRUM, J., SANTER, R., KOHLSCHÜTTER, A., KRAGELOH-MANN, I. & MULLER, I. 2016b. Long-term Outcome of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Patients With Juvenile Metachromatic Leukodystrophy Compared With Nontransplanted Control Patients. *JAMA Neurol*, 73, 1133-40.
- HAAS-UNMUSSIG, P. & SCHMIDT, C. 2010. [The discourse of the criteria for quality in qualitative research]. *Pflege*, 23, 109-18.
- HAVSTEEN, I., OHLHUES, A., MADSEN, K. H., NYBING, J. D., CHRISTENSEN, H. & CHRISTENSEN, A. 2017. Are Movement Artifacts in Magnetic Resonance Imaging a Real Problem?-A Narrative Review. *Front Neurol*, 8, 232.
- HEIM, P., CLAUSSEN, M., HOFFMANN, B., CONZELMANN, E., GÄRTNER, J., HARZER, K., HUNNEMAN, D. H., KÖHLER, W., KURLEMANN, G. & KOHLSCHÜTTER, A. 1997. Leukodystrophy incidence in Germany. *Am J Med Genet*, 71, 475-8.
- HETTIARACHCHI, D. & DISSANAYAKE, V. H. W. 2019. Three novel variants in the arylsulfatase A (ARSA) gene in patients with metachromatic leukodystrophy (MLD). *BMC Res Notes*, 12, 726.
- HOLLAND, S. & VANNEST, J. 2015. Cincinnati MR Imaging of Neurodevelopment (C-MIND). NIMH Data Archive.
- HUISMAN, T. A., LOENNEKER, T., BARTA, G., BELLEMANN, M. E., HENNIG, J., FISCHER, J. E. & IL'YASOV, K. A. 2006. Quantitative diffusion tensor MR imaging of the brain: field strength related variance of apparent

- diffusion coefficient (ADC) and fractional anisotropy (FA) scalars. *Eur Radiol*, 16, 1651-8.
- KAUFMAN, A. S., FLANAGAN, D. P., ALFONSO, V. C. & MASCOLO, J. T. 2016. Test Review: Wechsler Intelligence Scale for Children, Fourth Edition (WISC-IV). *Journal of Psychoeducational Assessment*, 24, 278-295.
- KEHRER, C., BLUMENSTOCK, G., RAABE, C. & KRAGELOH-MANN, I. 2011. Development and reliability of a classification system for gross motor function in children with metachromatic leukodystrophy. *Dev Med Child Neurol*, 53, 156-60.
- KEHRER, C., ELGUN, S., RAABE, C., BOHRINGER, J., BECK-WODL, S., BEVOT, A., KAISER, N., SCHOLS, L., KRAGELOH-MANN, I. & GROESCHEL, S. 2021. Association of Age at Onset and First Symptoms With Disease Progression in Patients With Metachromatic Leukodystrophy. *Neurology*, 96, e255-e266.
- KEHRER, C., GROESCHEL, S., KUSTERMANN-KUHN, B., BURGER, F., KOHLER, W., KOHLSCHUTTER, A., BLEY, A., STEINFELD, R., GIESELMANN, V., KRAGELOH-MANN, I. & GERMAN, L. 2014. Language and cognition in children with metachromatic leukodystrophy: onset and natural course in a nationwide cohort. *Orphanet J Rare Dis*, 9, 18.
- KIM, J., SUN, Z., EZEKIAN, B., SCHOOLER, G. R., PRASAD, V. K., KURTZBERG, J., RICE, H. E. & TRACY, E. T. 2017. Gallbladder abnormalities in children with metachromatic leukodystrophy. *J Surg Res*, 208, 187-191.
- KOHLER, W., CURIEL, J. & VANDERVER, A. 2018. Adulthood leukodystrophies. *Nat Rev Neurol*, 14, 94-105.
- KOTHBAUER, P., JELLINGER, K., GROSS, H., MOLZER, B. & BERNHEIMER, H. 1977. Adulte metachromatische Leukodystrophie unter dem Bild einer schizophrenen Psychose. *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten*, 224, 379-387.
- KRAGELOH-MANN, I. & GROESCHEL, S. 2016. Therapies of lysosomal storage disorders targeting the brain. *Lancet*, 388, 440-2.
- LE BIHAN, D. 2013. Apparent diffusion coefficient and beyond: what diffusion MR imaging can tell us about tissue structure. *Radiology*, 268, 318-22.
- LEBEL, C., TREIT, S. & BEAULIEU, C. 2017. A review of diffusion MRI of typical white matter development from early childhood to young adulthood. *NMR Biomed*.
- LIBERT, J., VAN HOOFF, F., TOUSSAINT, D., ROOZITALAB, H., KENYON, K. R. & GREEN, W. R. 1979. Ocular Findings in Metachromatic Leukodystrophy: An Electron Microscopic and Enzyme Study in Different Clinical and Genetic Variants. *Archives of Ophthalmology*, 97, 1495-1504.
- LICHTENBERGER, E. O. & KAUFMAN, A. S. 2010. Kaufman Assessment Battery for Children—Second Edition (KABC-II). In: CLAUSS-EHLERS, C. S. (ed.) *Encyclopedia of Cross-Cultural School Psychology*. Boston, MA: Springer US.

- LINCOLN, Y. S., GUBA, E. G. & PUBLISHING, S. 1985. *Naturalistic Inquiry*, SAGE Publications.
- LINDERKAMP, O., JANUS, L., LINDER, R. & SKORUPPA, D. B. 2009. Entwicklungsschritte des fetalen Gehirns. *Int. J. Prenatal and Perinatal Psychology and Medicine*, 21.
- MARTIN, P., HAGBERG, G. E., SCHULTZ, T., HARZER, K., KLOSE, U., BENDER, B., NAGELE, T., SCHEFFLER, K., KRAGELOH-MANN, I. & GROESCHEL, S. 2021. T2-Pseudonormalization and Microstructural Characterization in Advanced Stages of Late-infantile Metachromatic Leukodystrophy. *Clin Neuroradiol*, 31, 969-980.
- PINELES, S. L. & BALCER, L. J. 2019. 5 - Visual Loss: Optic Neuropathies. In: LIU, G. T., VOLPE, N. J. & GALETTA, S. L. (eds.) *Liu, Volpe, and Galetta's Neuro-Ophthalmology (Third Edition)*. Elsevier.
- POORTHUIS, B. J., WEVERS, R. A., KLEIJER, W. J., GROENER, J. E., DE JONG, J. G., VAN WEELY, S., NIEZEN-KONING, K. E. & VAN DIGGELEN, O. P. 1999. The frequency of lysosomal storage diseases in The Netherlands. *Hum Genet*, 105, 151-6.
- RAGHAVAN, A., G. & H., K. E. 1981. <Journal of Neurochemistry - February 1981 - Raghavan - Leukocyte Sulfatidase for the Reliable Diagnosis of Metachromatic.pdf>. *Journal of Neurochemistry*.
- RAMAKRISHNAN, H., HEDAYATI, K. K., LULLMANN-RAUCH, R., WESSIG, C., FEWOU, S. N., MAIER, H., GOEBEL, H. H., GIESELMANN, V. & ECKHARDT, M. 2007. Increasing Sulfatide Synthesis in Myelin-Forming Cells of Arylsulfatase A-Deficient Mice Causes Demyelination and Neurological Symptoms Reminiscent of Human Metachromatic Leukodystrophy. *Journal of Neuroscience*, 27, 9482-9490.
- REYNOLDS, J. E., GROHS, M. N., DEWEY, D. & LEBEL, C. 2019. Global and regional white matter development in early childhood. *NeuroImage*, 196, 49-58.
- ROSENBERG, J. B., KAMINSKY, S. M., AUBOURG, P., CRYSTAL, R. G. & SONDHI, D. 2016. Gene therapy for metachromatic leukodystrophy. *Journal of neuroscience research*, 94, 1169-1179.
- SCHNEIDER, J., KOBER, T., BICKLE GRAZ, M., MEULI, R., HUPPI, P. S., HAGMANN, P. & TRUTTMANN, A. C. 2016. Evolution of T1 Relaxation, ADC, and Fractional Anisotropy during Early Brain Maturation: A Serial Imaging Study on Preterm Infants. *AJNR Am J Neuroradiol*, 37, 155-62.
- SCHULZE, M., GROESCHEL, S., GBUREK-AUGUSTAT, J., NÄGELE, T. & HORGER, M. 2015. Lysosomal Storage Diseases – Lysosomale Speichererkrankungen. *RöFo*, 187, 1057-1060.
- SENER, R. N. 2001. Diffusion MRI: apparent diffusion coefficient (ADC) values in the normal brain and a classification of brain disorders based on ADC values. *Computerized Medical Imaging and Graphics*, 25, 299-326.
- SESSA, M., LORIOLI, L., FUMAGALLI, F., ACQUATI, S., REDAELLI, D., BALDOLI, C., CANALE, S., LOPEZ, I. D., MORENA, F., CALABRIA, A., FIORI, R., SILVANI, P., RANCOITA, P. M. V., GABALDO, M., BENEDECENTI, F., ANTONIOLI, G., ASSANELLI, A., CICALESE, M. P., DEL CARRO, U., SORA, M. G. N., MARTINO, S., QUATTRINI, A., MONTINI, E., DI SERIO, C., CICERI, F., RONCAROLO, M. G., AIUTI,

- A., NALDINI, L. & BIFFI, A. 2016. Lentiviral haemopoietic stem-cell gene therapy in early-onset metachromatic leukodystrophy: an ad-hoc analysis of a non-randomised, open-label, phase 1/2 trial. *The Lancet*, 388, 476-487.
- STEJSKAL, E. O. & TANNER, J. E. 1965. Spin Diffusion Measurements: Spin Echoes in the Presence of a Time-Dependent Field Gradient. *The Journal of Chemical Physics*, 42, 288-292.
- STROLIN, M. 2018. *Quantifizierung der Gehirnveränderung bei Kindern mit juveniler Metachromatischer Leukodystrophie und der Effekt der Stammzelltransplantation*. Eberhard Karls Universität zu Tübingen.
- STROLIN, M., KRAGELOH-MANN, I., KEHRER, C., WILKE, M. & GROESCHEL, S. 2017. Demyelination load as predictor for disease progression in juvenile metachromatic leukodystrophy. *Ann Clin Transl Neurol*, 4, 403-410.
- TILLEMA, J.-M., DERKS, M. G. M., POUWELS, P. J. W., DE GRAAF, P., VAN RAPPARD, D. F., BARKHOF, F., STEENWEG, M. E., VAN DER KNAAP, M. S. & WOLF, N. I. 2015. Volumetric MRI data correlate to disease severity in metachromatic leukodystrophy. *Annals of Clinical and Translational Neurology*, 2, 932-940.
- VAN DER KNAAP, M. S. & BUGIANI, M. 2017. Leukodystrophies: a proposed classification system based on pathological changes and pathogenetic mechanisms. *Acta Neuropathol*.
- VAN DER VELDT, N., VAN RAPPARD, D. F., VAN DE POL, L. A., VAN DER KNAAP, M. S., VAN OUWERKERK, W. J., BECHER, J. G., WOLF, N. I. & BUIZER, A. I. 2018. Intrathecal baclofen in metachromatic leukodystrophy. *Dev Med Child Neurol*.
- VAN DER VOORN, J. P., POUWELS, P. J., KAMPHORST, W., POWERS, J. M., LAMMENS, M., BARKHOF, F. & VAN DER KNAAP, M. S. 2005. Histopathologic correlates of radial stripes on MR images in lysosomal storage disorders. *AJNR Am J Neuroradiol*, 26, 442-6.
- VAN RAPPARD, D. F., BOELENS, J. J. & WOLF, N. I. 2015. Metachromatic leukodystrophy: Disease spectrum and approaches for treatment. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 29, 261-73.
- VAN RAPPARD, D. F., KONIGS, M., STEENWEG, M. E., BOELENS, J. J., OOSTERLAAN, J., VAN DER KNAAP, M. S., WOLF, N. I. & POUWELS, P. J. W. 2018. Diffusion tensor imaging in metachromatic leukodystrophy. *J Neurol*.
- VON HIRSCH, T. & PEIFFER, J. 1955. Über histologische Methoden in der Differentialdiagnose von Leukodystrophien und Lipoidosen. *Arch. Psychiat. Nervenkr.*, 194, 88-104.
- WECHSLER, D. 2008. Wechsler Adult Intelligence Scale--Fourth Edition (WAIS-IV). *APA PsycTests*.
- WEISHAUPT, D., KÖCHLI, V. D. & MARINCEK, B. 2014. *Wie funktioniert MRI?*, Springer Berlin Heidelberg.
- WILLETT, F. R., DEO, D. R., AVANSINO, D. T., REZAIL, P., HOCHBERG, L. R., HENDERSON, J. M. & SHENOY, K. V. 2020. Hand Knob Area of

Premotor Cortex Represents the Whole Body in a Compositional Way.
Cell, 181, 396-409 e26.

7 Erklärung zum Eigenanteil

Diese Arbeit „Die Quantifizierung der zerebralen Mikrostruktur bei Metachromatischer Leukodystrophie mittels Diffusions – Tensor – Bildgebung“ wurde in der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin des Universitätsklinikums Tübingen unter der Betreuung von Prof. Dr. med. Samuel Gröschel durchgeführt.

Die Konzeption und Durchführung des Promotionsprojektes erfolgten in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. med. Samuel Gröschel, Oberarzt und Betreuer dieser Dissertation. Unterstützt wurde dieses Promotionsprojekt von Prof. Dr. med. Ingeborg Krägeloh-Mann und Prof. Dr. med. Marko Wilke.

Die Arbeitsschritte und Messungen wurden, nach Einarbeitung durch Prof. Dr. med. Samuel Gröschel, von mir eigenständig durchgeführt.

Die statistische Auswertung erfolgte, nach Anleitung durch Prof. Dr. med. Samuel Gröschel, eigenständig durch mich.

Die Publikation „Clinical significance of diffusion imaging in metachromatic leukodystrophy“, veröffentlicht im Mai 2023 im Journal Neuropediatrics, wurde maßgeblich durch Dr. med. Pascal Martin als Koautor mit geteilter Erstautorenschaft und Prof. Dr. med. Samuel Gröschel unterstützt. Alle Koautoren der o.g. Publikation Amedick et al. waren an der Erstellung des Manuskripts und der Veröffentlichung im Journal Neuropediatrics beteiligt.

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

8 Liste der Veröffentlichungen

8.1 Wissenschaftliche Publikation

Titel: Clinical significance of diffusion imaging in metachromatic leukodystrophy
Autoren: Amedick et al, 2023
Journal: Neuropediatrics 2023
DOI: 10.1055/a-2073-4178

8.2 Kongressbeiträge

Titel: Diffusion Tensor Imaging in Metachromatic Leukodystrophie: Biomarkers for Disease Progress and Therapeutic Evaluation
Autoren: Amedick et al., 2018
Journal: Neuropediatrics 2018; 49(S 02): S1-S69
DOI: 10.1055/s-0038-1675930

8.3 Koautorenschaften bei Kongressbeiträgen

Titel: Effect of intrathecal recombinant human arylsulfatase A enzyme replacement therapy on structural brain MRI in children with metachromatic leukodystrophy
Autoren: Groeschel et al, 2020
Journal: Molecular Genetics and Metabolism, Volume 129, Issue 2, February 2020, Page S68
DOI: 10.1016/j.ymgme.2019.11.161

Anhang

Das hier als Masterskript bezeichnete Skript ist die Auflistung der zeitlich hintereinander durchlaufenden Arbeitsschritte von den Vorverarbeitungsschritten bis hin zur Messung in den ROI in MRtrix (www.mrtrix.org). Die einzelnen Schritte wurden manuell kontrolliert, bevor der nächste Punkt im Skript durchgeführt wurde.

Der Name Masterskript entstand durch die Zusammenstellung der einzelnen Skripte für die jeweiligen Arbeitsschritte, die im Prozess chronologisch hintereinander entstanden sind und durchgeführt wurden.

Das Format für die Speicherung lautet `.sh` und entspricht dem Unix-Shell-Bash Standard.

Im Folgenden sind die Unterpunkte mit `#` gekennzeichnet und das Masterskript aufgeführt:

```
#!/bin/bash
#cd /media/arbeit/lucas/mri
#for i in */*; do
    cd $i

#####1: making directory
    echo making directory "diff", preprocessing and coreg $i.....
    mkdir "diff" preprocessing coreg

#####2: denoising
    echo denoising dwi $i.....
    if [ -f preprocessing/dwi_DTI.mif ]; then
        dwidenoise          preprocessing/dwi_DTI.mif          prepro-
        cessing/dwi_DTI_dn.mif
        mrcalc preprocessing/dwi_DTI.mif preprocessing/dwi_DTI_dn.mif -
        subtract preprocessing/res.mif
    elif [ -f preprocessing/dwi_trace.mif ]; then
        dwidenoise          preprocessing/dwi_trace.mif          prepro-
        cessing/dwi_trace_dn.mif
        mrcalc          preprocessing/dwi_trace.mif          prepro-
        cessing/dwi_trace_dn.mif -subtract preprocessing/res.mif
    else
        echo no dwi or trace to denoise
    fi

#####3: distortion correction
    echo dwi distortion correction $i.....
#    comment use fsl 5.0.10
#    foreach -8 */* : dwipreproc IN/preprocessing/dwi_DTI_dn.mif
#        IN/preprocessing/dwi_DTI_dn_preproc.mif -rpe_none -pe_dir AP
    if [ -f preprocessing/dwi_DTI_dn.mif ]; then
```

```
        dwipreproc      preprocessing/dwi_DTI_dn.mif      prepro-
        cessing/dwi_DTI_dn_preproc.mif -rpe_none -pe_dir AP
    else
        echo no dwi or trace to preproc
    fi
```

#####4: b0 extraction

```
    echo extract b0 from denoised and preprocessed dwi $i.....
    if [ -f preprocessing/dwi_DTI_dn_preproc.mif ]; then
        mrconvert -coord 3 0 preprocessing/dwi_DTI_dn_preproc.mif
        diff/b0.mif
    elif [ -f preprocessing/dwi_trace_dn_preproc.mif ]; then
        mrconvert -coord 3 0 preprocessing/dwi_trace_dn_preproc.mif
        diff/b0.mif
    elif [ -f preprocessing/dwi_DTI_dn.mif ]; then
        mrconvert -coord 3 0 preprocessing/dwi_DTI_dn.mif diff/b0.mif
    elif [ -f preprocessing/dwi_trace_dn.mif ]; then
        mrconvert -coord 3 0 preprocessing/dwi_trace_dn.mif diff/b0.mif
    else
        echo no dwi or trace to extract b0
    fi
```

#####5: create ADC, FA and EV

```
    echo ADC and FA and EV from denoised and preprocessed dwi
    $i.....
    if [ -f preprocessing/dwi_DTI_dn_preproc.mif ]; then
        dwi2mask      preprocessing/dwi_DTI_dn_preproc.mif      prepro-
        cessing/mask.mif
        dwi2tensor preprocessing/dwi_DTI_dn_preproc.mif -mask prepro-
        cessing/mask.mif preprocessing/dt.mif
        tensor2metric preprocessing/dt.mif -adc diff/adc.nii -fa diff/fa.nii -
        vect diff/ev.nii
```

```

elif [ -f preprocessing/dwi_trace_dn_preproc.mif ]; then
    dwi2mask    preprocessing/dwi_trace_dn_preproc.mif    prepro-
    cessing/mask.mif
    dwi2adc preprocessing/dwi_trace_dn_preproc.mif diff/adc_b0.nii
    mrconvert -coord 3 0 diff/adc_b0.nii diff/b0_from_adc.nii
    mrconvert -coord 3 1 diff/adc_b0.nii diff/adc.nii
elif [ -f preprocessing/dwi_DTI_dn.mif ]; then
    dwi2mask preprocessing/dwi_DTI_dn.mif preprocessing/mask.mif
    dwi2tensor preprocessing/dwi_DTI_dn.mif -mask prepro-
    cessing/mask.mif preprocessing/dt.mif
    tensor2metric preprocessing/dt.mif -adc diff/adc.nii -fa diff/fa.nii -
    vect diff/ev.nii
elif [ -f preprocessing/dwi_trace_dn.mif ]; then
    dwi2mask      preprocessing/dwi_trace_dn.mif      prepro-
    cessing/mask.mif
    dwi2adc preprocessing/dwi_trace_dn.mif diff/adc_b0.nii
    mrconvert -coord 3 0 diff/adc_b0.nii diff/b0_from_adc.nii
    mrconvert -coord 3 1 diff/adc_b0.nii diff/adc.nii
elif [ -f preprocessing/dwi_trace.mif ]; then
    dwi2mask      preprocessing/dwi_trace.mif      prepro-
    cessing/mask_ori.mif
    dwi2adc preprocessing/dwi_trace.mif diff/adc_b0_ori.nii
    mrconvert -coord 3 0 diff/adc_b0_ori.nii diff/b0_from_adc_ori.nii
    mrconvert -coord 3 1 diff/adc_b0_ori.nii diff/adc_ori.nii
else
    echo no dwi or trace to create ADC, FA or EV
fi

```

#####6: ROI template

```

echo making ROI template $i.....
mrthreshold preprocessing/mask.mif -abs 1.5 diff/ROI_FWM.mif
cp diff/ROI_FWM.mif diff/ROI_PLIC.mif

```

```
cp diff/ROI_FWM.mif diff/ROI_CR.mif
```

```
#####7: coregistration
```

```
echo rb0 resize
```

```
#foreach -8 */* : mrresize IN/diff/b0.mif IN/coreg/rb0.nii -vox 1,1,1
```

```
echo r05b0 resize
```

```
#foreach -8 */* : mrresize IN/diff/b0.mif IN/coreg/r05b0.nii -vox  
0.5,0.5,0.5
```

```
echo T1 b0 flirt reverse $i.....
```

```
# comment use fsl 5.0.9
```

```
# mrresize diff/b0.mif coreg/rb0.nii -vox 1,1,1
```

```
flirt -in coreg/rb0.nii -ref t1_3d.nii -omat coreg/t1_rb0_rev.txt -cost  
normmi -searchcost normmi -dof 6
```

```
convert_xfm -omat coreg/t1_rb0.txt -inverse coreg/t1_rb0_rev.txt
```

```
flirt -in t1_3d.nii -ref coreg/rb0.nii -applyxfm -init coreg/t1_rb0.txt -  
out diff/rt1_b0.nii
```

```
echo T2 b0 flirt reverse $i.....
```

```
# comment use fsl 5.0.9
```

```
# mrresize diff/b0.mif coreg/r05b0.nii -vox 0.5,0.5,0.5
```

```
flirt -in coreg/r05b0.nii -ref t2ax.nii -omat coreg/t2_r05b0_rev.txt -  
cost normmi -searchcost normmi -dof 6
```

```
convert_xfm -omat coreg/t2_r05b0.txt -inverse  
coreg/t2_r05b0_rev.txt
```

```
flirt -in t2ax.nii -ref coreg/r05b0.nii -applyxfm -init coreg/t2_r05b0.txt  
-out diff/rt2_b0.nii
```

```
#####8: transform (if coregistration doesn't work)
```

```
echo T1 b0 transformation
```

```
mrtransform t1_3d.nii -temp coreg/rb0.nii diff/rt1.nii
```

```
echo T2 b0 transformation
```

```
mrtransform t2ax.nii -temp coreg/r05b0.nii diff/rt2.nii
```

```
#####9: setting ROIs
```

```
#mrview2 adc.nii b0.nii ev.nii fa.nii rt1_b0.nii rt2_b0.nii rt1.nii rt2.nii &
#mrview2 adc.nii b0.nii rt1_b0.nii rt2_b0.nii rt1.nii rt2.nii &
#setting ROIs manually
```

```
#####10: ADC to table
```

```
echo ROI measurement ADC $i.....
if [[ -f diff/ROI_CR.mif && -f diff/adc.nii ]]; then
    ADC_ROI_CR=$(mrstats diff/adc.nii -mask diff/ROI_CR.mif -output
median)
    ADC_ROI_FWM=$(mrstats diff/adc.nii -mask diff/ROI_FWM.mif -
output median)
    ADC_ROI_PLIC=$(mrstats diff/adc.nii -mask diff/ROI_PLIC.mif -
output median)
elif [[ -f diff/ROI_CR.mif && -f diff/adc_ori.nii ]]; then
    ADC_ROI_CR_ori=$(mrstats diff/adc_ori.nii -mask diff/ROI_CR.mif
-output median)
    ADC_ROI_FWM_ori=$(mrstats diff/adc_ori.nii -mask
diff/ROI_FWM.mif -output median)
    ADC_ROI_PLIC_ori=$(mrstats diff/adc_ori.nii -mask
diff/ROI_PLIC.mif -output median)
else
    echo no ROI to measure
fi

if [[ -f diff/ROI_CR.mif && -f diff/adc.nii ]]; then
    echo $i $ADC_ROI_CR >> /media/arbeit/lucas/re-
sults/mld_ADC_ROI_CR.txt
    echo $i $ADC_ROI_FWM >> /media/arbeit/lucas/re-
sults/mld_ADC_ROI_FWM.txt
    echo $i $ADC_ROI_PLIC >> /media/arbeit/lucas/re-
sults/mld_ADC_ROI_PLIC.txt
```

```
elif [[ -f diff/ROI_CR.mif && -f diff/adc_ori.nii ]]; then
    echo $i $ADC_ROI_CR_ori >> /media/arbeit/lucas/re-
    sults/mld_ADC_ROI_CR_ori.txt
    echo $i $ADC_ROI_FWM_ori >> /media/arbeit/lucas/re-
    sults/mld_ADC_ROI_FWM_ori.txt
    echo $i $ADC_ROI_PLIC_ori >> /media/arbeit/lucas/re-
    sults/mld_ADC_ROI_PLIC_ori.txt
else
    echo no ROI to table
fi
```

#####11: FA to table

```
echo ROI measurement FA $i.....
if [[ -f diff/ROI_CR.mif && -f diff/fa.nii ]]; then
    FA_ROI_CR=$(mrstats diff/fa.nii -mask diff/ROI_CR.mif -output
    median)
    FA_ROI_FWM=$(mrstats diff/fa.nii -mask diff/ROI_FWM.mif -out-
    put median)
    FA_ROI_PLIC=$(mrstats diff/fa.nii -mask diff/ROI_PLIC.mif -output
    median)
else
    echo no ROI to measure
fi
```

```
if [[ -f diff/ROI_CR.mif && -f diff/fa.nii ]]; then
    echo $i $FA_ROI_CR >> /media/arbeit/lucas/re-
    sults/mld_FA_ROI_CR2.txt
    echo $i $FA_ROI_FWM >> /media/arbeit/lucas/re-
    sults/mld_FA_ROI_FWM2.txt
    echo $i $FA_ROI_PLIC >> /media/arbeit/lucas/re-
    sults/mld_FA_ROI_PLIC2.txt
else
```



```
echo no ROI to table
```

```
fi
```

```
cd ../..
```

```
#done
```