

Aus dem  
CharitéCentrum für Frauen-, Kinder- und Jugendmedizin mit  
Perinatalzentrum und Humangenetik (CC17)  
Klinik für Pädiatrie m. S. Onkologie und Hämatologie  
Direktorin: Prof. Dr. med. Angelika Eggert

## **Habilitationsschrift**

# **Allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation zur Therapie von Leukodystrophien, insbesondere der X-chromosomalen Adrenoleukodystrophie**

zur Erlangung der Lehrbefähigung  
für das Fach Kinderheilkunde

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät  
Charité-Universitätsmedizin Berlin

von

**Dr. med. Jörn-Sven Kühl  
aus Hamburg**

**Eingereicht: September 2021**

**Dekan: Prof. Dr. med. Axel R. Pries**

**1. Gutachter\*innen: Prof. Dr. Claudia Rössig, Münster**

**2. Gutachter\*innen: Prof. Dr. Tayfun Güngör, Zürich**

## INHALTSVERZEICHNIS

	<b>ABKÜRZUNGEN</b>	<b>3</b>
<b>1.</b>	<b>EINLEITUNG</b>	
<b>1.1</b>	Allgemeine Grundlagen der allogenen hämatopoetischen Stammzelltransplantation	<b>4</b>
<b>1.2</b>	Allgemeine Betrachtungen für den Einsatz der allogenen hämatopoetischen Stammzelltransplantation bei angeborenen, nicht-malignen Erkrankungen	<b>6</b>
<b>1.3</b>	Leukodystrophien	<b>7</b>
<b>1.3.1</b>	Metachromatische Leukodystrophie	<b>9</b>
<b>1.3.2</b>	X-chromosomale Adrenoleukodystrophie	<b>10</b>
<b>1.4</b>	Fragestellungen (übergreifend über alle verwendeten Arbeiten)	<b>13</b>
<b>2.</b>	<b>EIGENE ARBEITEN</b>	
	P1 - Long-term outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with juvenile metachromatic leukodystrophy compared with nontransplanted control patients	<b>14</b>
	P2 - Haematopoietic stem cell transplantation in 12 patients with cerebral X-linked adrenoleukodystrophy	<b>31</b>
	P3 - Potential risks to stable long-term outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for children with cerebral X-linked adrenoleukodystrophy	<b>41</b>
	P4 - Long-term outcomes of allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for adult cerebral X-linked adrenoleukodystrophy	<b>64</b>
	P5 - Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with myeloablative conditioning for adult cerebral X-linked adrenoleukodystrophy	<b>80</b>
<b>3.</b>	<b>DISKUSSION (übergreifend über alle verwendeten Arbeiten)</b>	<b>94</b>
<b>3.1</b>	Ergebnisse bei metachromatischer Leukodystrophie	<b>94</b>
<b>3.2</b>	Ergebnisse bei X-chromosomaler Adrenoleukodystrophie	<b>96</b>
<b>3.2.1</b>	Einfluss von HSZT-Bedingungen auf das Transplantationsergebnis bei CALD	<b>96</b>
<b>3.2.2</b>	Bedeutung des Ausgangsstatus für das Transplantationsergebnis bei kindlicher CALD	<b>98</b>
<b>3.2.3</b>	Bedeutung des Ausgangsstatus für das Transplantationsergebnis bei adulter CALD	<b>101</b>
<b>3.2.4</b>	Allogene HSZT im Vergleich zur Gentherapie bei CALD	<b>102</b>
<b>4.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK</b>	<b>104</b>
<b>5.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>106</b>
<b>6.</b>	<b>DANKSAGUNG</b>	<b>114</b>
<b>7.</b>	<b>ERKLÄRUNG</b>	<b>115</b>

## ABKÜRZUNGEN

<b>ALD</b>	X-chromosomale Adrenoleukodystrophie
<b>ALD-DRS</b>	<i>ALD Disability Related Score</i> (= Index für ALD-assozierte Behinderungen)
<b>AMN</b>	Adrenomyeloneuropathie
<b>CALD</b>	ALD mit zerebralem Verlauf („zerebrale ALD“)
<b>EBMT</b>	<i>European Society for Blood and Marrow Transplantation</i> (= Europäische Gesellschaft für Blut- und Knochenmarktransplantation)
<b>EDSS</b>	Kurtzke <i>Expanded Disability Status Scale</i> (= Index zum funktionellen Grad der Behinderung (bei multipler Sklerose))
<b>EMA</b>	<i>European Medicines Agency</i> (Europäische Zulassungsbehörde für Pharmazeutika)
<b>GVHD</b>	<i>Graft-Versus-Host Disease</i> (= Spender-gegen-Wirt Erkrankung)
<b>HLA</b>	<i>Human Leukocyte Antigen</i> (= humanes Leukozytenantigen)
<b>HSZT</b>	Hämatopoetische Stammzelltransplantation
<b>IQ</b>	Intelligenzquotient
<b>KMT</b>	Knochenmarktransplantation
<b>MPS</b>	Monozyten-/Makrophagensystem
<b>MFD</b>	<i>Major Functional Disabilities</i> (= wesentliche funktionelle Behinderungen im NFS)
<b>MLD</b>	Metachromatische Leukodystrophie
<b>MRT</b>	Magnetresonanztomographie = Kernspintomographie
<b>NFS</b>	<i>Neurological Function Score</i> (= neurologischer Funktionsindex)
<b>PBSZT</b>	Periphere Blutstammzelltransplantation
<b>VLFA</b>	<i>Very Long Chain Fatty Acids</i> (überlangkettige Fettsäuren)
<b>ZNS</b>	Zentralnervensystem

## 1. EINLEITUNG

### 1.1 Allgemeine Grundlagen der allogenen hämatopoetischen Stammzelltransplantation

Die allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation stellt inzwischen eine etablierte klinische Methode in der Behandlung zahlreicher lebensbedrohlicher (Blut)Erkrankungen dar. Die Bedeutung des Verfahrens für die Medizin kommt in der Verleihung des Nobelpreises für Physiologie und Medizin an E. Donnall Thomas 1990 für seine Pionierarbeit auf dem Gebiet der experimentellen und klinischen Knochenmarktransplantation zum Ausdruck (zur Referenz für diese allgemeinen Ausführungen siehe Buch (1)). In der Öffentlichkeit wird aufgrund der Schicksale von Prominenten und insbesondere durch die Kampagnen der Deutschen Knochenmarkspenderdatei („DKMS-Wir besiegen Blutkrebs“<sup>1</sup>) vor allem der Einsatz der Stammzelltransplantation bei Leukämien und Lymphomen wahrgenommen. Die Entwicklung des Verfahrens basiert wesentlich auf der in den 50er Jahren des 20. Jahrhunderts gewachsenen Erkenntnis, dass die gesamte Blutbildung auf einer pluripotenten hämatopoetischen Stammzelle beruht und diese bei der allogenen Transplantation von einem gesunden Spender auf einen Patienten übertragen wird (2). Voraussetzung für die Identifikation eines geeigneten Familien- oder unverwandten Stammzellspenders war die Entdeckung des *major histokompatibility complex* (=MHC) bzw. beim Menschen der humanen Leukozytenantigene (*HLA-System*), mit deren Hilfe die zelluläre Immunantwort des Empfängers zwischen „Selbst“ und „Fremd“ unterscheidet. Kam bis zu den 90er Jahren des 20. Jahrhunderts fast ausschließlich Knochenmark als Stammzellquelle zum Einsatz, werden heute zusätzlich Nabelschnurblut, besonders aber nach Mobilisation aus dem Knochenmark auch periphere Blutstammzellen verwendet, so dass man inzwischen nicht mehr von *Knochenmarktransplantation*, sondern allgemein von *hämatopoetischer Stammzelltransplantation* (HSZT) spricht.

Für die erfolgreiche Übertragung hämatopoetischer Stammzellen von einem HLA-passenden Spender ist es erforderlich, dass beim Empfänger 1) in der Knochenmarksnische Platz geschaffen und 2) das Immunsystem ausreichend supprimiert ist, damit das Transplantat nicht abgestoßen werden kann (*Host-versus-Graft* Reaktion). Dies wird mit einer sogenannten myeloablativen Konditionierung beim Patienten unmittelbar vor Transplantation erreicht, deren kombinierte myelo- und lymphotoxischen Effekte ein Engraftment der allogenen Stammzellen beim Patienten ermöglichen und deren Abstoßung verhindern sollen (1,3). Hauptbestandteil der meisten myeloablativen Therapieschemata sind Stammzell-toxische Alkylantien wie Busulfan und/oder die myelo- und lymphotoxische Ganzkörperbestrahlung. Bei einer malignen Erkrankung soll die Konditionierungstherapie zusätzlich antitumoral wirken. Lange Zeit wurde der antitumorale Effekt der hochdosierten Konditionierung überschätzt, so dass die Verwendung immer aggressiverer Schemata bis zu Beginn der 90er Jahre zu einer stetig steigenden Therapietoxizität und -letalität führte. Für die erfolgreiche Leukämiebehandlung ist dagegen oft der Allo-Effekt wichtiger, d.h. der zytotoxische Effekt der alloreaktiven Spender-T-Zellen auf restliche, verbliebene Blasten im Leukämiepatienten. Die Bedeutung dieses als *Graft-versus-Leukemia* Reaktion bezeichneten Effektes zeigt sich indirekt auch im Scheitern der zunächst ersten erfolgreichen Stammzelltransplantation zwischen eineiigen Zwillingen 1957, bei der das Spender-T-Zellsystem nicht das leukämische Rezidiv im genetisch identen Zwilling verhindern konnte (1). Kehrseite des bei Leukämien gewünschten *Graft-versus-Leukemia* Effektes ist jedoch die *Graft-versus-Host* Erkrankung (GVHD), bei der alloreaktive Spender-T-Zellen den Empfänger als fremd erkennen (4–6). Das Risiko einer relevanten akuten GVHD liegt selbst bei HLA-identen Transplantationen vom Geschwisterspender bei etwa 20 % (1,5), so dass standardmäßig bei jeder allogenen HSZT eine GVHD-Prophylaxe durchgeführt wird. Diese ist bei Transplantationen von unverwandten Spendern in Form von anti-T-Zell-Antikörpern („Anti-Thymozyten-Globulin“) oft Teil der Konditionierung. Das Prinzip der GVHD-Prophylaxe besteht in einer Depletion alloreaktiver T-Zellen des Spenders durch eine anhaltende Immunsuppression. Aus den Stammzellen nach Transplantation neu gebildete T-

---

<sup>1</sup> Zitiert nach [www.dkms.de](http://www.dkms.de) (abgerufen am 10.07.2021)

Zellen sind dann, zumindest theoretisch, durch Selektionsprozesse im Thymus nicht mehr alloreaktiv, sondern tolerant gegenüber dem neuen Wirt sein. Bei Kindern mit Stammzellpräparaten von HLA-passenden Spendern funktioniert der Prozess der Toleranzinduktion nach Transplantation so gut, dass bei den meisten Patienten nach 6-12 Monaten die Immunsuppression beendet werden kann.

Ursprünglich war die allogene Knochenmarktransplantation zur Therapie erworbener Störungen wie akute Leukämien oder aplastische Anämien z.B. nach Strahlenexposition gedacht. Mit der Erkenntnis, dass die hämatopoetische Stammzelle nicht nur den Ursprung der eigentlichen Blutbildung in Form von Erythropoese, Myelopoese und Thrombopoese darstellt, sondern auch noch das Immunsystem und das Monozyten-/Makrophagen-System (MPS) generiert (2), wurde auch die Therapie angeborener Störungen evaluiert. Bei angeborenen Erkrankungen in diesen Systemen wirkt die allogene HSZT mit der Übertragung intakter, funktionsfähiger Stammzellen wie eine Gentherapie. Tatsächlich markiert eine allogene Knochenmarktransplantation bei einem Patienten mit einem angeborenen schweren kombinierten Immundefekt 1968 die erste langfristig erfolgreich verlaufene Stammzelltransplantation (1).

Im Rahmen dieser Entwicklung rückte auch die Anwendung der allogenen HSZT bei bestimmten Speichererkrankungen in den Fokus (zur Übersicht (7)). Ende der 1960er Jahre wurde gezeigt, dass durch *in vitro* Ko-Kultivierung von Fibroblasten aus Patienten mit verschiedenen Mukopolysaccharidoseformen eine metabolische Kreuzkorrektur stattfindet, d.h. Fibroblasten von Patienten mit Mukopolysaccharidose Typ I (Hurler) korrigieren den Stoffwechseldefekt in Fibroblasten von Patienten mit Mukopolysaccharidose Typ II (Hunter) und umgekehrt (8). Dabei erfolgt die Übertragung intakter lysosomaler Enzyme nicht nur über direkten Zellkontakt, sondern vorwiegend über Rezeptor-vermittelte Endozytose, beispielsweise den Mannose-6-Phosphat Rezeptor (9). Initial erhielten Mukopolysaccharidose-Patienten mit begrenztem Erfolg Plasmagaben gesunder Spender. Inzwischen stehen für zahlreiche lysosomale Speichererkrankungen spezifische Enzymersatztherapien zur Verfügung. Deren langfristige Effektivität kann allerdings durch die Bildung neutralisierender Antikörper vom Patientenimmunsystem eingeschränkt sein. Außerdem können intravenös applizierte Enzyme kaum die Blut-Hirn-Schranke passieren und sind daher bei Mitbeteiligung des Zentralnervensystems (ZNS) wirkungslos. Die Arbeitsgruppe um John Raymond Hobbs in London pilotierte jedoch in den 1970er Jahren konsequent die Möglichkeit, solche Erkrankungen mittels allogener Knochenmarktransplantation kausal zu behandeln (10). Nach erfolgreicher allogener HSZT produzieren die hämatopoetischen Zellen eines gesunden Stammzellspenders stetig aktive lysosomale Enzyme, ohne dass dagegen vom neuen Spenderimmunsystem Antikörper gebildet werden. Von besonderer Bedeutung hierbei ist, dass auch Zellen außerhalb des Gefäß- und Lymphsystems Enzyme freisetzen, nämlich die vom MPS-abgeleiteten Spenderzellen in verschiedenen Organen wie beispielsweise Kupffersche Sternzellen in der Leber, Alveolarmakrophagen in der Lunge, Osteoklasten im Knochen sowie Histiozyten und Langerhans Zellen in der Haut. Interessant für bestimmte Erkrankungen des ZNS ist die Tatsache, dass nach einer allogenen HSZT Mikroglia im ZNS des Patienten durch langlebige Spendermakrophagen ersetzt werden kann und somit intakte Zellen bzw. Lysozyme auch jenseits der Blut-Hirn-Schranke wirksam sind (11–13).

## 1.2 Allgemeine Betrachtungen für den Einsatz der allogenen hämatopoetischen Stammzelltransplantation bei angeborenen, nicht-malignen Erkrankungen

Bei einer allogenen HSZT für nicht-maligne Erkrankungen sind die Rahmenbedingungen in einigen Punkten besonders und können sich von denen bei malignen Erkrankungen unterscheiden (3):

- 1) Das Sterblichkeitsrisiko im ersten Jahr nach allogener HSZT ist üblicherweise höher als die Sterblichkeit im gleichen Zeitraum durch den natürlichen Verlauf einer nicht-malignen Erkrankung, d.h. ein Überlebensvorteil durch eine allogene HSZT wird selbst bei rasch progredienten, nicht-malignen Erkrankungen im Gegensatz zu akuten Leukämien erst längerfristig erkennbar.
- 2) In der Regel benötigt der Effekt einer allogenen HSZT einen gewissen Zeitraum bis zum Eintritt der maximalen Wirkung. Bei Speichererkrankungen des ZNS ist dies die Zeit des Austausches von Patienten-Mikroglia durch langlebige Spendermakrophagen aus dem Knochenmark, die 12-18 Monate beanspruchen kann (14,15). Schreitet die Erkrankung währenddessen rasch voran, ist die klinische Effektivität der allogenen HSZT gering.
- 3) Idealerweise sollte bei Patienten mit nicht-malignen Erkrankungen eine allogene HSZT rechtzeitig vor Auftreten von Komplikationen erfolgen, die zu irreversiblen Endorganschäden führen, damit langfristig eine möglichst hohe Lebensqualität erreicht wird. Die Durchführung einer allogenen HSZT bei einem klinisch „gesunden“ Patienten bedeutet besonders hohe Anforderungen an die Sicherheit der allogenen HSZT.
- 4) Ein *Graft-versus-Leukemia*-Effekt ist bei nicht-malignen Erkrankungen nicht erforderlich, eine GVHD unerwünscht. Daher bedarf es bei nicht-malignen Erkrankungen einer effektiven GVHD-Prophylaxe.
- 5) Umgekehrt ist das Abstoßungsrisiko nach allogener HSZT bei nicht-malignen Erkrankungen höher, da die Patienten im Unterschied zu Leukämie-Patienten vor Konditionierung keine immunsuppressive Chemotherapie erhalten.
- 6) Historisch sind Familienmitglieder, insbesondere HLA-idente Geschwister, die präferierten Stammzellspender. Bei nicht-malignen Erkrankungen können jedoch Familienmitglieder heterozygot betroffen sein. Insbesondere bei lysosomalen Speichererkrankungen ist die Stoffwechsellkorrektur durch heterozygote Familienspender schlechter als nach Transplantation von gesunden, unverwandten Spendern. Daher sollte bei Bedarf und ausreichend vorhandener Zeit intensiv nach einem gut passenden unverwandten Spender gesucht werden.

Bis Anfang der 2000er Jahre waren die Risiken für eine schwere akute GVHD (Grad >II) nach HSZT von unverwandten Spendern hoch, was insbesondere bei nicht-malignen Erkrankungen ein Problem bildete. Bis zu diesem Zeitpunkt erfolgte die HLA-Typisierung bei der Spendersuche oft nur immunologisch mittels Antikörper auf der Basis von 6 bis maximal 8 HLA-Merkmalen. Wenn molekulargenetisch typisiert wurde, dann meist nur mit niedriger Auflösung auf HLA-Antigenebene. Rückblickend dürfte nach eigener Erfahrung rund die Hälfte aller damals als passend klassifizierter unverwandter Spender tatsächlich nicht HLA-passend gewesen sein. Damit einher ging eine höhere akute Organtoxizität und Therapie-assoziierte Sterblichkeit. Gerade nach klassischen myeloablativen Konditionierungen mit Busulfan und Cyclophosphamid war die Sterblichkeit nach Transplantation von unverwandten Spendern deutlich höher als bei HLA-identen Geschwistern (16,17). Hier haben in den letzten 20 Jahren die konsequente Einführung von molekulargenetisch-basierten, hochauflösenden HLA-Typisierungen auf Allelebene mit Testung von 10-12 Merkmalen und der vermehrte Einsatz Fludarabin-basierter Konditionierungsprotokolle zu Verbesserungen gerade bei nicht-malignen Erkrankungen geführt (16,18–21). Therapietodesfälle in den ersten drei Monaten nach HSZT mit angepasster Konditionierung von einem 10/10 HLA-passenden unverwandten Spender sind heute bei nicht-malignen Erkrankungen erfreulicherweise selten. Trotz dieser Verbesserungen in der Auswahl unverwandter Spender und im Gebrauch

toxizitätsreduzierter Konditionierungen sowie im Bereich der Supportivtherapie bleibt die allogene HSZT allerdings eine Behandlungsform mit einer gewissen Therapie-assoziierten Morbidität und Letalität (22–25). Insbesondere immunologisch-bedingte Probleme, die GVHD einerseits und die Transplantatabstoßung (*graft failure*) andererseits, stellen weiterhin die Haupthindernisse der allogenen Transplantation dar. Bei Kindern muss man mit einer klinisch-relevanten akuten GVHD (Grad  $\geq$  II) in ca. 30 %, mit einer extensiven chronischen GVHD in mindestens 10 % der Patienten rechnen (4–6). Bei Erwachsenen liegt das Risiko aufgrund der schlechteren Thymusfunktion und der damit verbundenen eingeschränkten Toleranzentwicklung noch höher (26,27). Auch wenn nicht-maligne Erkrankungen keinen antitumoralen Effekt des Konditionierungsregimes erfordern, kann die Intensität der Vorbehandlung nicht beliebig reduziert werden, da eine nicht-myeloablative Vorbehandlung zu einem unbefriedigenden Spenderchimismus und einer unakzeptabel hohen Abstoßungsrate führen kann, insbesondere bei Spendern mit einer HLA-Allel- oder Antigen-Differenz (17,21,28–30). Zu den Problemen von GVHD und Abstoßung kommen noch Probleme wie akute Organtoxizität oder Infektionen, insbesondere von Virus- und Aspergillusinfektionen, hinzu. Es besteht eine Korrelation zwischen dem Grad der Immunsuppression zur Vermeidung von GVHD oder Abstoßung einerseits und dem Risiko schwerwiegender Infektionen andererseits (31–33). Hierbei spielen Infektionen oder Reaktivierungen von Viren der Herpesgruppe sowie Adenoviren eine besondere Bedeutung. Insgesamt muss man im pädiatrischen Bereich auch bei gut passenden Stammzellspendern immer noch mit einer Therapiesterblichkeit von 5-10 % nach allogener HSZT rechnen.

Diese erheblichen Risiken lassen sich grundsätzlich nur bei angeborenen, nicht-malignen Erkrankungen rechtfertigen, die mit deutlich verkürzter Lebenserwartung und/oder Einschränkung der Lebensqualität einhergehen. Die allogene HSZT sollte in der Lage sein, den Erkrankungsprozess zu stabilisieren und die Lebensqualität zu verbessern. Idealerweise ist der natürliche Verlauf einer solchen Erkrankung bekannt und sicher prognostizierbar, so dass man die allogene HSZT verlässlich in einem „präsymptomatischen“ Erkrankungsstadium, d.h. vor dem Auftreten irreversibler Endorganschäden bzw. Funktionseinbußen durchführen kann. Die Indikation für eine frühe allogene HSZT ist dann umso leichter zu vertreten, je geringer die erwartbaren Risiken sind.

### 1.3 Leukodystrophien

Leukodystrophien bilden eine heterogene Gruppe von über 30 verschiedenen, angeborenen Erkrankungen des Zentralnervensystems (ZNS), bei denen die Bildung von Myelin entweder verzögert bzw. defekt ist oder bei denen der Abbau von Myelin vorzeitig bzw. beschleunigt verläuft (34–37). Zahlreiche Leukodystrophien weisen häufig ein typisches Muster in der Kernspintomographie (MRT) vom Kopf auf, so dass auf dieser Basis eine Verdachtsdiagnose möglich ist (35,37). Aufgrund der beim Säugling erst beginnenden Myelinisierung ist die MRT-Interpretation in dieser Altersgruppe allerdings schwierig. Kraniale Leukodystrophien mit vorzeitigem Myelinabbau bzw. neurodegenerative Erkrankungen sind häufig durch pathologische Anhäufung nicht-abgebauter Substrate, oxidativen Stress und Neuroinflammation gekennzeichnet (38). Dabei kommt es typischerweise zu einer Aktivierung von Mikroglia mit nachfolgender Rekrutierung und Invasion peripherer Makrophagen und Lymphozyten in das Hirnparenchym hinein (39–42). Die Leukodystrophien, bei deren Pathophysiologie die Mikroglia eine wichtige Rolle spielt bzw. bei denen ortsständige Makrophagen als Enzymspender dienen können, sind daher prinzipiell mit einer allogenen HSZT therapierbar (15,43). Dies ist der Fall bei zwei lysosomalen Stoffwechselerkrankungen, der Globoidzell-Leukodystrophie (Morbus Krabbe) und der Metachromatischen Leukodystrophie sowie der Adrenoleukodystrophie, einer peroxisomalen Erkrankung. Ähnliches scheint auch für die hereditäre adulte Leukoencephalopathie mit Sphäroiden (HLSP, MIM #221820) zu gelten, einer rasch progredienten adulten Leukoencephalopathie auf dem Boden eines mikroglialen Funktionsverlustes bei *CSF1*-Rezeptormutation (44,45). Einen Überblick über diese vier Leukodystrophieerkrankungen gibt Tabelle 1.

Tabelle 1: Leukodystrophie Erkrankungen mit Indikation für eine allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation und ihre verschiedenen Verlaufsformen

Erkrankung Form (Frequenz)	Erkrankungsbeginn	Gen/Genetik/Lokalisation	Typische Klinik (unbehandelt)	HSZT	Gen-therapie
<b>Globoidzell-Leukodystrophie (M. Krabbe) (MIM #245200)</b>					
(Früh)Infantil (>80%)	<6 Mo.	<i>GALC</i> (14q31) AR	Extreme Irritabilität, Spastizität, Entwicklungsretardierung, Tod <2 J.	(+)	AAV (Studie)
Spät-infantil	6 Mo. – 3 J.	Lysosomal	Etwas später und milder	+	
Juvenil-adult	>3 J.	(Mikroglia)	Spastik, Kognition ↓, Erblindung	+	
<b>Metachromatische Leukodystrophie (MLD) (MIM #250100 [249900])</b>					
(Spät)Infantil	<30 Mo.	<i>ARSA</i> (22q13.33)	Spastik, Ataxie, Polyneuropathie, Verlust Motorik/Sprache <40. Mo.	(+)	Lentiviral (zugelassen)
Juvenil	2,5-16 J.	[ <i>PSAP</i> (10q22.1)]	Später und variabler	+	
Adult	>16 J.	AR Lysosomal (Mikroglia)	Psychose, Kognition ↓, Polyneuropathie, später Spastik/Ataxie	+	
<b>(X-chromosomale) Adrenoleukodystrophie (ALD) (MIM #300100)</b>					
Kindlich zerebral (35-40%)	>1,5-18 J.	<i>ABCD1</i> (Xq28) X-chromosomal Peroxisomal	Verhaltensauffälligkeiten, meist innerhalb von 5 J.: Demenz, neurologische Defizite, häufig mit M. Addison	+	Lentiviral (vor Zulassung)
AMN (>95%)	14-60 J.	Mikroglia	Spastik, Sensorik↓, Blasenstörung, sexuelle Dysfunktion	-	AAV (geplant*)
Adult zerebral (20->50%)	>18 J.		Verhaltensauffälligkeiten/Psychose, später: Spastik, Ataxie, Demenz	+	
M. Addison (ca. 80%)	Maximum <10 J.		Hyperpigmentierung, febrile Addison Krisen bei Kindern häufig als Infektion fehldiagnostiziert	-	
Asymptomatisch (< 1%)			Oft vorzeitiger Haarverlust	-	
<b>Hereditäre diffuse Leukenzephalopathie mit Sphäroiden (HLSP) (MIM #221820)</b>					
	40-70 J.	<i>CSF1</i> (5q32) AD - Mikroglia	Kognition↓, psychiatrische Auffälligkeiten, spastisch-ataktischer Gang, Krampfanfälle, Blasenstörung	+	

Form/Frequenz: relative Häufigkeit der Verlaufsformen untereinander, bei Adrenoleukodystrophie sind nur die Formen bei hemizygoten männlichen Patienten aufgeführt, Frequenz bei AMN (=Adrenomyeloneuropathie) und adult zerebral: Anteil unter erwachsenen Männern, Frequenz bei M. Addison und asymptomatisch: Gesamtlebensrisiko. Erkrankungsbeginn: in Monaten (Mo.) oder Jahren (J.). Gen/Genetik: Gen und Genort benannt, AR = autosomal rezessiv, AD = autosomal dominant, *PSAP* = Prosaposin, alternative Erkrankungsursache für MLD durch fehlendes Aktivatorprotein. HSZT: allogene Stammzelltransplantation, - = nicht indiziert, (+) = (nur begrenzt) wirksam. Gentherapie: AAV = *in vivo* Therapie mittels Adenovirus-assoziiertem Vektor, lentiviral = *ex vivo gene adding* mittels lentiviralem Vektor. MIM = *Mendelian Inheritance in Man*. Informationen nach (35,46–50) sowie OMIM (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>) und <https://clinicaltrials.gov/> (abgerufen jeweils 10.07.2021). \* geplante AAV-Gentherapie bei AMN: persönliche Mitteilung Dr. F. Eichler.



Die Globoidzell-Leukodystrophie (MIM #245200) ist eine autosomal-rezessiv vererbte lysosomale Speichererkrankung, die praktisch ausschließlich die weiße Substanz von ZNS sowie peripherem Nervensystem betrifft. Sie wird verursacht durch ein defektes Galactosylceramidase Gen (GALC) (46). Mehr als 80% der Patienten entwickeln die (früh)infantile Verlaufsform, den eigentlichen Morbus Krabbe, mit Erkrankungsbeginn vor dem 6. Lebensmonat. Die Erkrankung ist rasch progredient mit massiver Verschlechterung der Motorik und Kognition; sie führt regelhaft zum Tod vor dem 3. Lebensjahr. Erhalten präsymptomatische Krabbe-Patienten in den ersten zwei Lebensmonaten eine Nabelschnurbluttransplantation, können alle Patienten überleben, die meisten sogar mit normaler Kognition (51). Allerdings entwickeln praktisch alle Patienten im weiteren Verlauf eine periphere Neuropathie mit Spastik. Symptomatisch transplantierte Krabbe-Patienten weisen zwar auch einen Überlebensvorteil auf, zeigen aber nur minimale neurologische Verbesserungen (51,52). Insgesamt ist somit die Effektivität der allogenen HSZT bei der (früh)infantilen Verlaufsform begrenzt. Dementsprechend rieten wir in der Charité bei einer Familie mit einem symptomatischen Krabbe-Säugling von der Transplantation ab. Deutlich wirksamer scheint der Transplantationseffekt bei den selteneren *late-onset* Formen zu sein, die durch einen langsameren Progress sowie neben (Tetra)Spastik und Verschlechterung der Kognition häufig durch Visusverlust charakterisiert sind (53). Wir selber haben bei einer 19-jährigen Patientin nach allogener HSZT eine beeindruckende Langzeit-Stabilisierung der Erkrankung mit verbessertem Intelligenzquotienten (IQ) gesehen. Aufgrund der sehr begrenzten eigenen Erfahrung bleibt die Globoidzell-Leukodystrophie im Folgenden jedoch weitgehend unberücksichtigt.

### 1.3.1 Metachromatische Leukodystrophie

Der Metachromatischen Leukodystrophie (MLD) liegt meist ein autosomal-rezessiv vererbter Defekt im ARSA Gen (MIM #250100) mit entsprechender Inaktivität des Enzyms Arylsulfatase A zugrunde (47,54). Selten kann phänotypisch die gleiche Erkrankung auch durch einen Defekt im Aktivatorprotein der Arylsulfatase, Saposin B, verursacht werden (55). Ein Funktionsverlust der Arylsulfatase A führt zu Akkumulation von Cerebrosid-3-Sulfat („Sulfatide“) im ZNS und peripheren Nervensystem mit nachfolgender Demyelinisierung (54). Bei etwa 15 % der Gesamtbevölkerung findet sich eine symptomlose Pseudodefizienz des Gens bzw. des Enzyms, so dass die Diagnose einer MLD immer den Nachweis einer erhöhten Gesamtsulfatidausscheidung im Urin erfordert (14,56). Die MLD hat eine Inzidenz von etwa 1:40.000 (57). Abhängig vom klinischen Manifestationsbeginn unterscheidet man eine (spät)infantile (Beginn der klinischen Symptomatik bis 30. Lebensmonat), eine juvenile (Beginn 2,5-16 Jahre) und eine adulte Verlaufsform (Beginn >16 Jahre) (47). Die (spät)infantile Form schreitet am raschesten voran und führt regelhaft zum Verlust aller grobmotorischen Funktionen bis zum 40. Lebensmonat (58). Der Beginn der juvenilen Form ist sehr variabel. Sobald die Patienten allerdings nicht mehr selbständig laufen können, entwickelt sich der weitere Erkrankungsprogress bis zum vollständigen Verlust der Grobmotorik bei der juvenilen Form ähnlich rasch wie bei der infantilen (58,59). Die adulte Form beginnt häufig mit psychiatrischen Auffälligkeiten wie einer Psychose oder einem kognitiven Abbau, bevor sich neurologische Symptome wie Spastik bemerkbar machen. Der zeitliche Verlauf der adulten Form ist noch schwerer vorhersehbar. Die Spätformen entwickeln recht häufig Gallenblasenpseudopolypen durch Einlagerung von Sulfatiden in die Schleimhaut, was gelegentlich sonografische Zufallsdiagnosen erlaubt. Es besteht eine gewisse Korrelation zwischen dem Genotyp und der Verlaufsform: Mutationen ohne jegliche ARSA-Restaktivität in beiden elterlichen Allelen bedingen die (spät)infantile Form, eine ARSA-Restaktivität in wenigstens einem der beiden Allele die später beginnenden, mildereren Erkrankungsformen (47,60). Eine ARSA-Restaktivität in beiden Allelen geht phänotypisch in der Regel mit einer adulten Verlaufsform einher.

Obwohl erst in den letzten Jahren größere Fallserien zur allogenen HSZT bei MLD publiziert wurden, war schon länger bekannt, dass Patienten mit der rasch progredienten (spät)infantilen Form kaum von einer allogenen HSZT profitieren (7,14). Bei der juvenilen Form ist die Frage nach der Rolle der allogenen HSZT nicht so leicht zu beantworten, da die erheblichen Therapierisiken der Transplantation

dem initial recht milden Verlauf gegenüberstehen. Erschwert war die Bewertung eines therapeutischen Vorteils lange Zeit auch dadurch, dass nicht ausreichend Daten zum natürlichen Verlauf der juvenilen Verlaufsform verfügbar waren. Dem Ziel, die Effektivität der allogenen HSZT bei der juvenilen Form der MLD zu bestimmen, diente die Studie P1 (61), die gemeinschaftlich mit den Universitätskinderkliniken Tübingen und Hamburg durchgeführt wurde.

### 1.3.2 X-chromosomale Adrenoleukodystrophie

Die klassische Adrenoleukodystrophie (vereinfacht abgekürzt ALD<sup>2</sup>) wird X-chromosomal vererbt und stellt mit einer Häufigkeit von ca. 1:17.000 bei Hemizygoten und Heterozygoten die häufigste aller peroxisomalen Erkrankungen des Menschen dar (62). Das verantwortliche *ABCD1* Gen (MIM #300100) kodiert eine als Homodimer funktionierende, transmembranöse, peroxisomale ATPase (49,63,64). Mutationen im *ABCD1* Gen bzw. ein defektes ALD-Protein führen zu einer gestörten  $\beta$ -Oxidation mit einer charakteristischen Akkumulation überlangkettiger Fettsäuren (*very long chain fatty acids* = VLCFA), insbesondere im Hirn und der Nebenniere (64,65).

Möglicherweise hat schon Otto Heubner 1897 den ersten Jungen mit dieser von ihm als „diffusen Sklerose“ bezeichneten Erkrankung beschrieben (zitiert nach (48)), der erste typische Fallbericht stammt 1910 von Haberfeld und Spieler (66). Die von Paul Schilder histologisch exakter als rasch progrediente Demyelinisierung mit perivaskulärer Entzündung charakterisierte „Encephalitis periaxialis diffusa“ (67) war dann jahrelang als „Schildersche Erkrankung“ bekannt. In den 1970er Jahren erkannte man, dass nicht nur die klassisch kindliche Verlaufsform, sondern auch eine primäre Nebenniereninsuffizienz sowie eine spastische Neuropathie im Erwachsenenalter ((68,69) alle durch erhöhte VLCFA charakterisiert sind (70) und somit ein gemeinsames Krankheitsbild darstellen, wofür der Begriff „Adrenoleukodystrophie“ geprägt wurde (zitiert nach (49)). Hugo Moser teilte die Erkrankung klinisch erstmals in 7 unterschiedliche Phänotypen auf (71). Die möglichen Phänotypen bei Männern sind in Tabelle 1 zusammengestellt, wobei Überlappungen bzw. Kombinationen vorkommen. Nach aktueller Einschätzung stellt die chronisch-degenerative, spinale Neuropathie bei Erwachsenen, die sogenannte Adrenomyeloneuropathie (AMN), als eine Art Speichererkrankung die Hauptmanifestationsform der ALD dar, an der zwischen dem 15.-70. Lebensjahr nahezu alle hemizygoten Männer erkranken (Übersichtsarbeiten (49,64,72,73)). Klinische Symptome der AMN sind eine motorische Dysfunktion bis hin zur Tetraspastik, eine Sensibilitätsstörung oft in Form Beinbetonter Parästhesien, eine Blasen- und Mastdarmstörung mit Inkontinenz sowie bei Männern sexuelle Dysfunktion. Zusätzlich kommt es bei betroffenen Männern durch Anhäufung überlangkettiger Fettsäuren auch zur Schädigung von Haarfollikel mit vorzeitiger Glatzenbildung (bei „asymptomatischen“ Männern möglicherweise das einzige Krankheitssymptom) sowie zur Schädigung von Leydig-Zellen, resultierend in Oligospermie.

Im Gegensatz zur AMN verlaufen die zerebralen Formen (CALD) rasch progredient und enden meist innerhalb weniger Jahre nach Beginn der klinischen Symptomatik mit dem Tod oder zumindest dem Verlust entscheidender neurologischer bzw. neurokognitiver Funktionen (Übersichtsarbeiten (48,74,75)). Den zerebralen Formen liegt ein akut-entzündlicher, demyelinisierender Prozess zugrunde, der typischerweise durch die Störung der Blut-Hirnschranke und somit Kontrastmittelaufnahme im MRT des Kopfes gekennzeichnet ist (71,76,77). Etwa 35-40% aller betroffenen Merkmalsträger entwickeln bis zum 18. Lebensjahr einen zerebralen Verlauf, die sogenannte kindlich-zerebrale Form bzw. die klassische ALD (71). Obwohl die Häufigkeit zerebraler Verläufe bei Adoleszenten und erwachsenen Männern mit 2-5 % angegeben wird (48), kommen „reine“ zerebrale Verläufe ohne AMN-Symptome jenseits des 15. Lebensjahres praktisch kaum vor. Dagegen entwickeln mindestens 20%, möglicherweise sogar >50% aller betroffenen Männer im Verlauf einer AMN eine CALD (75,78). Hierfür scheint die Entwicklung eines pontino-cerebellären

---

<sup>2</sup> Die sehr viel seltenere, autosomal-rezessiv vererbte neonatale Adrenoleukodystrophie gehört zum Formenkreis des Zellweger-Syndroms, wird meist durch Mutationen im *PEX1* Gen (MIM #214100) verursacht und bleibt hier unberücksichtigt.

Demyelinisierungsmusters prognostisch ungünstig zu sein (79). Vereinfacht werden im Folgenden alle zerebralen Formen im Erwachsenenalter als adulte CALD bezeichnet. Zur Diagnose einer CALD im Erwachsenenalter ist in Abgrenzung zur AMN der Nachweis einer Kontrastmittelaufnahme im MRT zwingend erforderlich, da auch die AMN mit Demyelinisierungen der Projektionsfasern einhergeht, allerdings immer ohne Kontrastmittelaufnahme. Bei Kindern im Alter unter 15 Jahren geht man bei progredienten Demyelinisierungen im ZNS auch ohne eine Kontrastmittelaufnahme mehrheitlich von einer CALD aus, da die AMN in dieser Altersgruppe keine Rolle spielt.

Eine primäre Nebenniereninsuffizienz, ein Morbus Addison, kann sich unabhängig von einer AMN oder zerebralen ALD in jedem Lebensalter entwickeln, wobei das relative Risiko bis zum 10. Lebensjahr am höchsten ist (50). Das lebenslange Risiko für die Entwicklung eines Morbus Addison bei Männern beträgt etwa 80 %. Nebenniereninsuffizienzen sind bei heterozygoten Frauen selten, zerebrale Verläufe eine Rarität (80,81). Allerdings entwickeln rund 80 % aller heterozygoten Frauen AMN-Symptome bis zum 60. Lebensjahr (82), möglicherweise durch überzufällige X-Inaktivierung/Lyonisierung des gesunden Allels (83).

Mutationen im *ABCD1* Gen sind panethnisch und über das gesamte Gen ohne typische *hot spots* verteilt; aktuell sind 3151 Mutationen, davon 894 private, bekannt<sup>3</sup>. Es besteht keinerlei Genotyp-Phänotyp-Korrelation, d.h. die Entwicklung einer zerebralen Verlaufsform kann nicht prognostiziert werden. Mitglieder einer Familie mit derselben Mutation können alle unterschiedlichen klinischen Phänotypen entwickeln (64,84,85). Einige modifizierende Gene, die die Wahrscheinlichkeit eines zerebralen Verlaufs beeinflussen, sind bekannt, wie z.B. ein Polymorphismus im *CYP4F2* Gen, das über die peroxisomale  $\omega$ -Oxidation die Höhe der VLCFA beeinflusst (72,86,87). Andererseits sind diskordante Verläufe auch bei eineiigen Zwillingen beschrieben (88), so dass epigenetische und zufällige Faktoren möglicherweise eine größere Rolle spielen. Über die Entwicklung einer CALD nach Schädel-Hirn-Trauma wurde wiederholt berichtet (89–91). Am Universitätsklinikum Leipzig wurde 2017 ein knapp 4-jähriger Junge behandelt, der nach einer schweren Addison-Krise mit Schädigung des Nucleus caudatus einen zerebralen Verlauf entwickelte (A. Merkschlager, unpublizierte Daten). Auch wenn die Initiierung einer CALD nicht in allen Einzelheiten bekannt ist, geht man inzwischen davon aus, dass im ZNS männlicher ALD-Patienten aufgrund der charakteristischen Ansammlung von VLCFA in Zellmembranen, insbesondere im Myelin, ein proinflammatorisches Milieu vorherrscht (64). Schon lange ist bekannt, dass die Demyelinisierung typischerweise im *Corpus callosum* beginnt. Hier ist die Dichte myelinisierter Axone am höchsten (92). Eine akute ZNS-Inflammation wird dann durch weitere Faktoren begünstigt: Die Inaktivierung von *ABCD1* in menschliche Endothelzellen aus ZNS Kapillaren bewirkt eine vermehrte Expression von Adhäsionsmolekülen und defekte *tight junctions*, wodurch die Evasion von Monozyten in das Hirnparenchym gesteigert ist (40). Areale mit gestörter Blut-Hirn-Schranke sind durch eine Hypoperfusion bzw. gestörte mikrovaskuläre Perfusion gekennzeichnet (93,94). Außerdem weisen *ABCD1*-defekte Makrophagen bzw. Mikroglia von ALD-Patienten eine eingeschränkte Plastizität auf, so dass sie nach Stimulation nicht mehr vollständig von einem pro- in einen antiinflammatorischen Status zurückkehren (95). Insofern ist die Initiierung einer CALD wohl häufig das Ergebnis eines ausgeprägten, aber letztlich zufällig auftretenden Stresses für das ZNS, in dessen Folge das labile Gleichgewicht zur sich selbst unterhaltenden Inflammation mit progredienter Demyelinisierung verschoben wird. Zwar kann sich bei 10-20 % aller Jugendlichen eine ZNS-Demyelinisierung auch spontan stabilisieren (76,96,97), die definitive Arretierung einer CALD mit Wiederherstellung der Blut-Hirn-Schranke ohne Therapie ist in der ersten Lebensdekade jedoch eine Rarität (98,99).

1984 wurde über die erste allogene HSZT bei einer CALD berichtet (100). Obwohl im Gegensatz zu lysosomalen Speichererkrankungen eine metabolische Kreuzkorrektur bei peroxisomalen Membranproteinen nicht gelingt, wurde trotzdem früh eine klinische Stabilisierung mancher CALD-Patienten beobachtet (101,102). Insbesondere vor dem Hintergrund des oben skizzierten Entstehungsprozesses der CALD scheint der Austausch defekter Mikroglia durch langlebige Spendermakrophagen den entscheidende Wirkmechanismus bei der allogenen HSZT darzustellen

---

<sup>3</sup> Am 22.01.2021 abgerufen auf <https://adrenoleukodystrophy.info/>.

(43,103). Vor 20 Jahren war allerdings noch weitgehend unklar, welcher Patient mit CALD wirklich von einer allogenen HSZT profitiert und wer nicht. Offene Fragen waren u.a.: Kann die Transplantation den neurokognitiven Zustand im Vergleich zum Ausgangsstatus verbessern? Welche Rolle spielt neben dem Ausmaß der Demyelinisierung eventuell das Demyelinisierungsmuster? Und welchen Einfluss haben Transplantationsfaktoren auf das neurologische Langzeitergebnis bei der allogenen HSZT für die CALD bei Minderjährigen? Diese Fragen sollten die Studien P2 (104) und P3 (105) beantworten helfen. Seit den frühen 2000er Jahren wurde durch die Zusammenarbeit mit dem Neurologen Wolfgang Köhler (seinerzeit Chefarzt der Neurologie am Klinikum Wernsdorf, heute Leitender Oberarzt am Universitätsklinikum Leipzig) deutlich, dass auch erwachsene ALD-Patienten eine zerebrale Verlaufsform entwickeln können, die ähnlich fatal verläuft wie bei Jungen (75,78). Die ersten Fallberichte zur allogenen HSZT bei adulter CALD waren wenig aussagekräftig (106,107). Mit der Transplantationserfahrung bei ca. 25 Jungen mit CALD definierten wir im Jahre 2005 Kriterien für ein sinnvolles Therapieangebot bei betroffenen Männern mit dem Ziel, Überleben zu ermöglichen. Dabei war noch gar nicht sicher, ob der Austausch von Mikroglia im erwachsenen ZNS genauso gut funktionieren würde wie beim Kind (108). Geeignete erwachsene ALD-Patienten sollten eindeutig einen zerebralen Verlauf, d.h. kontrastmittelaufnehmende Demyelinisierungsherde im ZNS, in einem möglichst frühen Erkrankungsstadium zeigen sowie über einen passenden Stammzellspender verfügen. So begannen wir 2006 an der Charité, entsprechenden erwachsenen Patienten eine allogene HSZT auf der Basis eines individuellen Heilversuchs anzubieten. Neben der Ungewissheit, ob die allogene HSZT bei Männern überhaupt ähnlich wirksam ist, drängte sich auch die Frage nach Unterschieden bzw. Gemeinsamkeiten bei Risikomerkmale zwischen den beiden Altersgruppen auf. Da sich die Pariser Expertengruppe um Patrick Aubourg etwa zeitgleich dieselben Fragen stellte, bot es sich an, multizentrisch die erste größere Fallserie in der Publikation P4 zusammenzufassen (109). Diese Studienergebnisse waren jedoch durch etwas heterogene Transplantationskriterien und auch variierende Therapiekomplicationen beeinflusst, so dass die Charité-Transplantationen bis 2015 mit insgesamt 15 Patienten gesondert in einer weiteren Arbeit P5 analysiert wurden (110).

#### **1.4 Fragestellungen (übergreifend über alle verwendeten Arbeiten)**

*P1- Langzeit-Ergebnisse der allogenen HSZT bei der juvenile MLD (61):*

Hauptfragestellung: Wie sind die Langzeitergebnisse von Patienten mit einer juvenilen MLD nach allogener HSZT im Vergleich zu unbehandelten Kontrollpatienten mit der gleichen Erkrankungsform?

*P2- HSZT bei 12 Patienten mit zerebraler ALD (104):*

Hauptfragestellung: Welche Faktoren beeinflussen das Ergebnis der allogenen HSZT bei 12 sequentiell transplantierten Jungen mit kindlicher CALD?

*P3- Mögliche Risiken für ein stabiles Langzeitergebnis nach HSZT bei Kindern mit zerebraler ALD (105):*

Hauptfragestellung: Welche Risikofaktoren verhindern ein neurokognitiv stabiles Überleben nach allogener HSZT bei Kindern mit CALD?

Weitere Frage: Lassen sich Subgruppen mit klinisch unterschiedlichen Langzeitergebnissen beschreiben?

*P4- Langzeitergebnisse der allogenen HSZT bei adulter zerebraler ALD (109):*

Hauptfragestellung: Lässt sich eine adulte CALD durch eine allogene HSZT ähnlich gut stabilisieren wie bei Kindern?

Weitere Frage: Welche Faktoren bedingen ein besseres Langzeit-Überleben nach allogener HSZT bei Erwachsenen mit CALD?

*P5- Allogene HSZT mit myeloablativer Konditionierung bei adulter zerebraler ALD (110):*

Hauptfragestellung: Lassen sich monozentrisch die Transplantationsergebnisse bei adulter CALD durch eine einheitliche Patientenauswahl und Konditionierung verbessern?

Weitere Frage: Verhindern in dieser Patientengruppe mit adulter CALD weiterhin die gleichen Risikofaktoren ein stabiles Langzeit-Überleben nach allogener HSZT wie in der heterogeneren multizentrischen Kohorte?

## 2. EIGENE ARBEITEN

### P1

#### **Long-term Outcome of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Patients with Juvenile Metachromatic Leukodystrophy Compared with Nontransplanted Control Patients**

Groeschel, S.\*, Kühn, JS.\*, Bley, AE.\*, Kehrer, C., Weschke, B., Döring, M., Böhringer, J., Schrum, J., Santer, R., Kohlschütter, A., Krägeloh-Mann, I., Müller, I.

JAMA Neurology, September 2016, 1133-40, 73, \*all three authors equally contributed to this work

In den Jahren 2003 bis 2010 erhielten insgesamt 7 Kinder mit der juvenilen Form einer metachromatischen Leukodystrophie (MLD) an der Charité, Campus Virchow-Klinikum, eine allogene Stammzelltransplantation. Aufgrund des vergleichsweise langsamen und variablen Erkrankungsprogresses fiel es jahrelang schwer, einen echten Therapienutzen für diese Patienten zu belegen. Wir begannen daher ab 2011 zusammen mit Kollegen in Tübingen und Hamburg, die Verläufe der in diesen Zentren behandelten Patienten gemeinsam auszuwerten. Trotz der heterogenen Transplantationskohorte versprach die Studie belastbare Daten zum Transplantationseffekt, da die Neuropädiatrie an der Universitätskinderklinik Tübingen (Direktorin Frau Prof. Dr. med. Ingeborg Krägeloh-Mann) dank eines vom Bundesministerium für Bildung und Forschung geförderten Leukodystrophie-Forschungsprojekts (LEUKONET) über umfangreiche Daten zum natürlichen Erkrankungsverlauf verfügte. Bis zum Sommer 2015 konnten die Ergebnisse zusammengestellt werden.

Der nachfolgende Text entspricht dem Abstrakt der Studie von Groeschel et al. (61)

<https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2016.2067>

**„IMPORTANCE** Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) has been the only treatment option clinically available during the last 20 years for juvenile metachromatic leukodystrophy (MLD), reported with variable outcome and without comparison with the natural course of the disease.

**OBJECTIVE** To compare the long-term outcome of patients who underwent allogeneic HSCT with control patients who did not among a cohort with juvenile MLD.

**DESIGN, SETTING, AND PARTICIPANTS** Patients with juvenile MLD born between 1975 and 2009 and who received HSCT at a median age of 7 years (age range, 1.5-18.2 years) and nontransplanted patients with juvenile MLD born between 1967 and 2007 were included in this case-control study. The median follow-up after HSCT was 7.5 years (range, 3.0-19.7 years). Patients underwent HSCT at 3 German centers between 1991 and 2012. The analysis was done between July 2014 and August 2015.

**MAIN OUTCOMES AND MEASURES** Survival and transplantation-related mortality, loss of gross motor function (Gross Motor Function Classification in MLD), loss of any language function, and magnetic resonance imaging (MRI) severity score for cerebral changes. To explore prognostic factors at baseline, patients who underwent HSCT (hereafter, transplanted patients) were a priori divided into stable vs progressive disease, according to gross motor and cognitive function.

**RESULTS** Participants were 24 transplanted patients (11 boys, 13 girls) and 41 control patients (22 boys, 19 girls) who did not receive transplantation (hereafter, nontransplanted patients) with juvenile MLD. Among the transplanted patients, 4 children died of transplantation-related mortality, and 2 additional children died of rapid MLD progression 1.5 and 8.6 years after HSCT, resulting in a 5-year survival of 79% (19 of 24). Among the nontransplanted patients, 5-year survival after disease onset was 100% (41 of 41). However, 11 died of MLD progression, resulting in similar overall survival within the observation period. Nine of the long-term survivors after HSCT had disease progression, while 11 showed stable disease. Compared with the nontransplanted patients, the transplanted patients were less likely to lose their gross motor or language function and demonstrated significantly lower MRI severity scores at the latest examination. Patients after HSCT were more likely to have a stable disease course when undergoing HSCT at an early stage with no or only mild gross motor deficits (Gross Motor Function

Classification in MLD level 0 or 1) and an IQ of at least 85, when age at disease onset was older than 4 years, or when MRI severity scores were low (preferably  $\leq 17$ ).

**CONCLUSIONS AND RELEVANCE** Among patients with juvenile MLD, patients who underwent HSCT had a better gross motor and language outcome and lower MRI severity scores compared with nontransplanted patients. Transplantation at a presymptomatic or early symptomatic stage of juvenile MLD is associated with a reasonable chance for disease stabilization.“

## P2

### **Haematopoietic Stem Cell Transplantation in 12 Patients with Cerebral X-linked Adrenoleukodystrophy**

Baumann, M., Korenke, GC., Weddige-Diedrichs, A., Wilichowski, E., Hunneman, DH., Wilken, B., Brockmann, K., Klingebiel, T., Niethammer, D., **Kühl, JS.**, Ebell, W., Hanefeld F.  
European Journal of Pediatrics, Januar 2003, 6-14, 162

Außer den Patienten mit der juvenilen Form einer MLD und einer jungen erwachsenen Patientin mit einer Globoidzell-Leukodystrophie (M. Krabbe) wurden bis 2017 an der Charité, Campus Virchow-Klinikum, insgesamt 42 Jungen mit zerebraler Verlaufsform einer Adrenoleukodystrophie (CALD) transplantiert.

Dieser Schwerpunkt geht auf die Initiative von Prof. Dr. med. Christoph Korenke zurück, seinerzeit Oberarzt in der Abteilung für Neuropädiatrie der Universitätsmedizin Göttingen, der diesen Patienten eine Therapieoption anbieten wollte. Die erste Transplantation Anfang der 90er Jahre an der Medizinischen Hochschule Hannover blieb aufgrund einer Transplantatabstoßung erfolglos. Nach dem Wechsel an die Charité transplantierten wir ab Anfang 1997 in enger Kooperation mit der Neuropädiatrie in Göttingen regelmäßig Jungen mit einer CALD. Der Transplantationsverlauf der ersten 6 in Berlin transplantierten Patienten wurde zusammen mit dem 6 weiteren in Tübingen behandelten Jungen retrospektiv analysiert. Diese Studie stellt weltweit eine der ersten Transplantationsserien bei kindlicher CALD dar, die Risikofaktoren der Grunderkrankung für einen Erkrankungsprogress *post transplantationem* beschreiben und gehört zu den am meisten zitierten Arbeiten auf diesem Gebiet. Allerdings lieferte die kleine Kohorte damals noch nicht genügend Informationen, um jeden individuellen Krankheitsverlauf befriedigend zu erklären.

Der Abstrakt der Studie von Baumann et al. (104) <https://doi.org/10.1007/s00431-002-1097-3> lautet wie folgt:

„In an attempt to elucidate prognostic factors, the data on 12 boys who underwent haematopoietic stem cell transplantation (HSCT) for cerebral X-linked adrenoleukodystrophy were evaluated. Two further patients received HSCT but died from transplantation related complications. The data included neurological examination, neuropsychological testing and magnetic resonance imaging (MRI). Follow-up after HSCT was up to 5.5 years. Six patients showed a moderate to severe clinical deterioration after HSCT including two who died within 6 months. In this group, a MRI severity score of 10 or higher before HSCT was associated with severe impairment and a score of more than 12 was followed by rapid deterioration and death after HSCT. The presence of neurological symptoms before HSCT also affected prognosis. Six patients showed no deterioration in neurological or neuropsychological assessment after HSCT. Conclusion: our data confirm that haematopoietic stem cell transplantation can stop the progress of demyelination when performed at a critical early stage of the disease. The prognosis in an individual patient for the clinical course after stem cell transplantation can in general be given based on the status before transplantation, although individual patients may show an unexpected course.“



### P3

#### **Potential Risks to Stable Long-term Outcome of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Children with Cerebral X-linked Adrenoleukodystrophy**

**Kühl, JS.**, Kupper, J., Baqué; H., Ebell, M., Gärtner J., Spors, B., Steffen, I., Strauß, G., Weschke, B., Weddige, X., Köhler, W., Steinfeld, R.

JAMA Network Open, Juli 2018, e180769, 1

In den darauffolgenden Jahren bis 2014 wurden insgesamt 36 Jungen mit einer CALD (inklusive der 6 Patienten aus der vorherigen Arbeit (104)) am Campus Virchow-Klinikum von einem HLA-passenden Spender transplantiert. Die retrospektive Analyse der Transplantationsverläufe mit einer Mindestnachbeobachtungszeit von 2 Jahren stellt die weltweit größte Serie dieser Art dar und betrachtet in Ergänzung zur früheren Studie auch neuere Endpunkte. Die einheitliche, myeloablative Chemokonditionierung mit Busulfan und Cyclophosphamid erlaubte erstmals, zusätzlich zum Einfluss der Grunderkrankung auch den Effekt von Transplantationskomplikationen auf das neurokognitive Langzeitergebnis herauszuarbeiten. Außerdem gelang mit einer modifizierten Einteilung des MRT-Schweregrades, individuelle, ungewöhnlich schlechte Verläufe besser zu beschreiben. Der Datensatz zu dieser Studie wurde im Wesentlichen von Frau cand. med. Jana Kupper im Rahmen ihrer Doktorarbeit erstellt.

Der Abstrakt der Publikation von Kühl et al. (105) (<https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2018.0769>) ist wie folgt zitiert:

„**IMPORTANCE** Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is the standard intervention for childhood cerebral X-linked adrenoleukodystrophy. However, the pretransplant conditions, demyelination patterns, complications, and neurological outcomes of this therapy are not well characterized.

**OBJECTIVES** To identify the risks to stable neurocognitive survival after hematopoietic stem cell transplantation and to describe subgroups of patients with distinct clinical long-term outcomes.

**DESIGN, SETTING, AND PARTICIPANTS** This case series analyzed the treatment and outcome of a cohort of 36 boys who underwent hematopoietic stem cell transplantation at Charité Universitätsmedizin Berlin, Germany, between January 1, 1997, and October 31, 2014. Case analysis was performed from January 1, 2016, through November 30, 2017. During this retrospective review, the adrenoleukodystrophy-disability rating score and the neurological function score were used. Demyelinating lesions in the brain were quantified by the Loes score.

**MAIN OUTCOMES AND MEASURES** Overall survival, survival without major functional disabilities, and event-free survival were analyzed. Patients' clinical symptoms, demyelination patterns, and stem cell source were stratified.

**RESULTS** Of the 36 boys who underwent hematopoietic stem cell transplantation, the median (range) age was 7.2 (4.2-15.4) years; 18 were presymptomatic and 18 were symptomatic. Twentyseven patients (75%) were alive at a median (interquartile range [IQR]) follow-up of 108 (40-157) months. Sixteen of 18 presymptomatic patients (89%) survived, and 13 (72%) had an event-free survival with a median (IQR) survival time of 49 (37-115) months. Among the symptomatic patients, 11 of 18 (61%) survived, but only 1 was an event-free survival (6%) (median [IQR] time, 9 [3-22] months). Of the 9 patients who received a bone marrow transplant from a matched family donor, all survived. Among the 36 patients, 6 disease-related deaths (17%) and 3 transplant-related deaths (8%) occurred. Deaths from disease progression (n = 6) occurred only in patients with demyelination patterns other than parieto-occipital. In total, 18 patients (50%) displayed limited parieto-occipital (Loes score <9) or frontal (Loes score <4) demyelination before transplant (favorable). None of these patients died of progressive disease or developed major functional disabilities, 15 of them were characterized by stable neuroimaging after the transplant, and event-free survival was 77% (95%CI, 60%-100%). In contrast, the other 18 patients with more extended parieto-occipital demyelination (n = 6), frontal involvement (n = 4), or other demyelination patterns (n = 8) progressed (unfavorable): 13 patients developed epilepsy and 10 developed major functional disabilities, and their event-free survival was 0%. This

newly defined neuroimaging assessment correlated best with neurocognitive deterioration after transplant (hazard ratio, 16.7; 95%CI, 4.7-59.6).

**CONCLUSIONS AND RELEVANCE** All patients with favorable neuroimaging who received matched bone marrow remained stable after transplant, while some of the other patients developed major functional disabilities. Newborn screening for the disease and regular neuroimaging are recommended, and patients who lack a matched bone marrow donor may need to find new therapeutic options.“



Original Investigation | Neurology

# Potential Risks to Stable Long-term Outcome of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Children With Cerebral X-linked Adrenoleukodystrophy

Jörn-Sven Kühl, MD; Jana Kupper, MD; Hermann Baqué, Dipl Psych; Wolfram Ebell, MD; Jutta Gärtner, MD, PhD; Christoph Korenke, MD, PhD; Birgit Spors, MD; Ingo G. Steffen, MD; Gabriele Strauss, MD; Sebastian Voigt, MD, PhD; Bernhard Weschke, MD; Almuth Weddige, Dipl Psych; Wolfgang Köhler, MD; Robert Steinfeld, MD, PhD

## Abstract

**IMPORTANCE** Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is the standard intervention for childhood cerebral X-linked adrenoleukodystrophy. However, the pretransplant conditions, demyelination patterns, complications, and neurological outcomes of this therapy are not well characterized.

**OBJECTIVES** To identify the risks to stable neurocognitive survival after hematopoietic stem cell transplantation and to describe subgroups of patients with distinct clinical long-term outcomes.

**DESIGN, SETTING, AND PARTICIPANTS** This case series analyzed the treatment and outcome of a cohort of 36 boys who underwent hematopoietic stem cell transplantation at Charité Universitätsmedizin Berlin, Germany, between January 1, 1997, and October 31, 2014. Case analysis was performed from January 1, 2016, through November 30, 2017. During this retrospective review, the adrenoleukodystrophy-disability rating score and the neurological function score were used. Demyelinating lesions in the brain were quantified by the Loes score.

**MAIN OUTCOMES AND MEASURES** Overall survival, survival without major functional disabilities, and event-free survival were analyzed. Patients' clinical symptoms, demyelination patterns, and stem cell source were stratified.

**RESULTS** Of the 36 boys who underwent hematopoietic stem cell transplantation, the median (range) age was 7.2 (4.2-15.4) years; 18 were presymptomatic and 18 were symptomatic. Twenty-seven patients (75%) were alive at a median (interquartile range [IQR]) follow-up of 108 (40-157) months. Sixteen of 18 presymptomatic patients (89%) survived, and 13 (72%) had an event-free survival with a median (IQR) survival time of 49 (37-115) months. Among the symptomatic patients, 11 of 18 (61%) survived, but only 1 was an event-free survival (6%) (median [IQR] time, 9 [3-22] months). Of the 9 patients who received a bone marrow transplant from a matched family donor, all survived. Among the 36 patients, 6 disease-related deaths (17%) and 3 transplant-related deaths (8%) occurred. Deaths from disease progression (n = 6) occurred only in patients with demyelination patterns other than parieto-occipital. In total, 18 patients (50%) displayed limited parieto-occipital (Loes score <9) or frontal (Loes score <4) demyelination before transplant (favorable). None of these patients died of progressive disease or developed major functional disabilities, 15 of them were characterized by stable neuroimaging after the transplant, and event-free survival was 77% (95% CI, 60%-100%). In contrast, the other 18 patients with more extended parieto-occipital demyelination (n = 6), frontal involvement (n = 4), or other demyelination patterns (n = 8) progressed (unfavorable): 13 patients developed epilepsy and 10 developed major functional disabilities, and

(continued)

## Key Points

**Question** What are the risks to stable neurocognitive outcome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for childhood cerebral X-linked adrenoleukodystrophy?

**Findings** This single-center case series involving 36 boys with cerebral X-linked adrenoleukodystrophy found that all patients with favorable neuroimaging and matched bone marrow transplant had stable neurocognitive survival. In contrast, the disease progressed for all patients without these factors, and many developed major functional disabilities.

**Meaning** Patients without matched bone marrow transplant or with unfavorable neuroimaging findings may need therapeutic options other than hematopoietic stem cell transplantation.

## + Supplemental content

Author affiliations and article information are listed at the end of this article.

**Open Access.** This is an open access article distributed under the terms of the CC-BY License.

JAMA Network Open. 2018;1(3):e180769. doi:10.1001/jamanetworkopen.2018.0769

July 20, 2018 1/12

Abstract (continued)

their event-free survival was 0%. This newly defined neuroimaging assessment correlated best with neurocognitive deterioration after transplant (hazard ratio, 16.7; 95% CI, 4.7-59.6).

**CONCLUSIONS AND RELEVANCE** All patients with favorable neuroimaging who received matched bone marrow remained stable after transplant, while some of the other patients developed major functional disabilities. Newborn screening for the disease and regular neuroimaging are recommended, and patients who lack a matched bone marrow donor may need to find new therapeutic options.

JAMA Network Open. 2018;1(3):e180769. doi:10.1001/jamanetworkopen.2018.0769

## Introduction

X-linked adrenoleukodystrophy (X-ALD) is a peroxisomal disorder with an estimated incidence of 1 in 20 000 live births. It is associated with mutations in the *ABCD1* gene (OMIM 300100) that lead to defective  $\beta$ -oxidation with a characteristic accumulation of very long-chain fatty acids.<sup>1,4</sup>

In childhood, 30% to 35% of all affected males will develop an acute inflammatory cerebral variant termed *childhood cerebral X-ALD* (CCALD). This disease leads to rapid white matter destruction as well as loss of cognitive and neurological functions that usually result in death within a few years after onset of symptoms. A lack of both genotype/phenotype correlation and validated biomarkers hampers the early diagnosis of CCALD. Instead, regular magnetic resonance imaging (MRI) of the brain in affected patients is needed to diagnose CCALD as early as possible.<sup>2</sup> Independent from cerebral demyelination, patients may develop primary Addison disease at any time.

Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is an established long-term treatment method for boys with CCALD.<sup>5-13</sup> The mechanism of action seems to rely on the replacement of defective microglia by bone marrow-derived long-lived macrophages of the allogeneic donor,<sup>14-16</sup> which is facilitated by using busulfan in the chemoconditioning regimen.<sup>17</sup> Recently, lentivirus-based gene therapy has been introduced as the new treatment option for CCALD.<sup>18,19</sup> Both HSCT<sup>5,21</sup> and gene therapy<sup>19</sup> are effective when performed early in the course of CCALD, when limited brain demyelination has occurred and in the absence of neurological deficits. Consequently, expanding X-ALD screening to newborns allows early diagnosis and treatment.<sup>20</sup> Despite the potentials of gene therapy, HSCT will probably remain a standard in the near future. Therefore, we analyzed a single-center series of 36 patients with CCALD treated with HSCT from matched donors after a uniform myeloablative chemoconditioning. Our objectives were to identify the potential risk factors in stable neurocognitive survival after HSCT and to describe subgroups of patients with distinct clinical long-term outcomes.

## Methods

This study was approved by the institutional review board of Charité Universitätsmedizin Berlin, Germany, and was performed according to the Declaration of Helsinki.<sup>21</sup> Custodial parents and patients, when appropriate, signed an institutional review board-approved informed consent form before HSCT. Patient consent for this study was waived by the head of the Ethikkommission Charité (institutional review board) as no patient was contacted and all information was taken from medical records only. This study followed the [reporting guideline](#) for case series.

## Patients

Thirty-six boys underwent HSCT for CCALD at the Charité Universitätsmedizin Berlin, Germany, between January 1, 1997, and October 31, 2014. Their transplant course and outcome, according to

medical records, were retrospectively analyzed in an explorative fashion until November 30, 2017. The first 6 patients, treated before 2001, were analyzed in a previous multicenter study.<sup>8</sup> Case analysis was performed from January 1, 2016, through November 30, 2017.

Diagnosis of X-ALD was based on elevated concentrations of very long-chain fatty acids in fasting plasma. In 22 patients, *ABCD1* gene (HGNC 61) mutations were also available. Gadolinium enhancement in cerebral demyelinating lesions was required for diagnosing CCALD and detected by MRI in 35 patients. One patient (patient 26) displayed a progressive brainstem lesion without contrast enhancement.

Patients underwent detailed extended neurological examinations, MRI scans, and neuropsychological testing before and after HSCT. The treatment was offered on an individually selected compassionate basis in accordance with the practice guidelines of the Working Party on Inborn Errors of the European Bone Marrow Transplant Group.<sup>22</sup>

### Transplants

Nine patients (25%) received bone marrow from a 10 of 10 human leukocyte antigen (HLA)-matched family donor (sibling: n = 8; father: n = 1) (Table 1). Twenty-seven patients (75%) received stem cells from 6 of 6 HLA-matched (HLA-A, -B, -DRB1) unrelated donors on the basis of low-resolution class I and high-resolution class II DNA typing; 17 received bone marrow, 9 received peripheral blood stem cells, and 1 received cord blood. High-resolution HLA class I (HLA-A, B, Cw) and class II (HLA-DRB1, DQB1) molecular typing was available on 22 unrelated transplants, of which 20 patients were HLA matched by at least 9 of 10. Myeloablative conditioning consisted of busulfan (4 mg/kg/d orally for 4 days, together with anticonvulsive prophylaxis) and cyclophosphamide (50 mg/kg/d intravenously for 4 days or 60 mg/kg/d intravenously for 2 days [n = 6; since 2012]). For prophylaxis of graft-vs-host disease (GVHD), patients received serotherapy (except patient 7) and cyclosporine intravenously. Serotherapy consisted of horse antithymocyte globulin (n = 1; 1997), rabbit antithymocyte globulin (from Genzyme; n = 10; 1998-2001 or from Fresenius [now Neovii]; n = 22; 2001-2013), and alemtuzumab (Genzyme) (n = 2; 2014). Additional GVHD prophylaxis varied (eFigure 1 in the Supplement).

*Engraftment* was defined as the first day of neutrophil count greater than 500/ $\mu$ L for 3 consecutive days. Donor chimerism was determined by short tandem repeat analysis on total nucleated cells. Diagnosis of GVHD was primarily based on clinical criteria. Staging of acute and chronic GVHD was done according to published criteria<sup>23,24</sup>; chronic GVHD was only differentiated into limited or extended form. Transplant toxicity was described according to the National Cancer Institute common terminology criteria for adverse events, with severe toxicity recorded for adverse events greater than grade 2. Follow-up time was calculated in surviving patients.

### Data Acquisition and Assessment of Outcome

Patient-related clinical information was obtained from a retrospective review of medical records. The following assessment tools were used: the ALD-disability rating score (ALD-DRS; range, 0-4 points) for requirements of assistance in daily life, especially in school,<sup>5</sup> and the neurological function score (NFS; range, 0-25 points) for neurological deficits,<sup>7</sup> including major functional disability (MFD).<sup>19</sup> Demyelinating lesions in the brain were quantified by the Loes MRI severity score (range, 0-34 points).<sup>25</sup> For all of these tools, a score of 0 indicates no abnormalities, whereas increasing numbers indicate worsening patient status. Patterns of MRI abnormalities were subdivided into 5 groups as described elsewhere<sup>26</sup> with 1 modification (eAppendix in the Supplement). The overall IQ as well as verbal and performance IQ were measured with appropriate tools.<sup>8</sup>

Patients' baseline status was analyzed according to the reason for diagnosis (ie, family screening vs Addison disease vs symptoms), the clinical disease stage, and MRI demyelination. Major outcome measures were overall survival, MFD-free survival, and event-free survival (EFS)—ie, survival without gain in ALD-DRS (eAppendix in the Supplement). For most patients, the neurological scores reflect

their status 5 years after HSCT; if this time point was not reached, then the status at last visit (minimum of 37 months after HSCT) or just before death was used.

**Statistical Analysis**

Comparisons of continuous variables were done with the Mann-Whitney rank sum test. Categorical variables were compared using the Fisher exact test. Survival was estimated by the Kaplan-Meier method, and comparisons were done with the log-rank method. The Cox proportional hazards regression model was used to identify risk factors on overall survival, MFD-free survival, and EFS. Statistical analyses were performed using Sigmaplot, version 11.0 (Systat Inc) and R, version 3.4.3 (R Foundation for Statistical Computing). Two-sided *P* < .05 was considered as significant.

Table 1. Patient Demographics and Transplant Characteristics

Variable	No. (%)
All patients	36 (100)
Reason for diagnosis	
Family screening	19 (53)
Addison disease	8 (22)
Behavioral or neurological symptoms	9 (25)
Addison disease	
Clinical signs	17 (47)
Clinical symptoms at HSCT	
Presymptomatic <sup>a</sup>	18 (50)
Clinical symptom scores at HSCT	
ALD-DRS	
0 / 1 / >1 <sup>b</sup>	20 (56) / 9 (25) / 7 (19)
Median (range)	0 (0-3)
NFS	
0 / 1 / >1 <sup>b</sup>	21 (58) / 8 (22) / 7 (19)
Median (range)	0 (0-8)
IQ before HSCT	
Performance IQ <80	12 (33)
Overall IQ, median (range [IQR])	89 (68-128 [83-103])
Neuroimaging before HSCT	
Follow-up MRI twice per year	15 (42)
Cerebral disease on first MRI	17 (47)
Loes score <9 <sup>b</sup>	28 (78)
Loes score, median (range)	4.5 (1-14)
Interval CCALD-HSCT, median (range [IQR]), mo <sup>c</sup>	3 (1-30 [2-4])
Age at HSCT, median (range [IQR]), y	7.2 (4.2-15.4 [6.5-9.7])
Chemoconditioning regimen	
Busulfan and cyclophosphamide, 200 mg/kg	30 (83)
Busulfan and cyclophosphamide, 120 mg/kg	6 (17)
Donor type	
Related bone marrow <sup>d</sup>	9 (25)
Unrelated bone marrow	17 (47)
Unrelated peripheral blood stem cells	9 (25)
Unrelated cord blood	1 (3)
HLA match	
10 of 10 HLA high-resolution typing	22 (61)
9 of 10 HLA high-resolution typing	7 (19)
6 of 6 HLA low-/high-resolution typing	7 (19)

Abbreviations: ALD-DRS, adrenoleukodystrophy disability rating score; CCALD, childhood cerebral X-linked adrenoleukodystrophy; HLA, human leukocyte antigen; HSCT, hematopoietic stem cell transplantation; IQR, interquartile range; MRI, magnetic resonance imaging; NFS, neurological function score.

<sup>a</sup> Presymptomatic: no neurological, psychological, or behavioral symptoms in detailed examination before HSCT (ie, NFS = 0; ALD-DRS = 0).

<sup>b</sup> ALD-DRS range, 0-4 points; NFS range, 0-25 points; and Loes MRI score range, 0-34 points. For all scores: 0 indicates no abnormalities, and higher numbers indicate worsening status.

<sup>c</sup> Interval from first detection of CCALD in MRI to HSCT.

<sup>d</sup> Related donors: 6 male donors tested by very long-chain fatty acids (all negative/wild-type); 3 female donors tested by molecular genetics (*ABCD1* gene)—wild-type (n = 2) and heterozygous (n = 1).

## Results

### Patient Status Before HSCT

Patient characteristics are summarized in Table 1. The median (range) age of the 36 boys was 7.2 (4.2-15.4) years. Thirteen of 18 presymptomatic patients (72%) (ALD-DRS and NFS = 0) were diagnosed by family screening, and 17 of 36 patients (47%) displayed clinical symptoms of adrenal insufficiency. Early diagnosis by family screening or Addison disease allowed for MRI scans every 6 months in 15 patients (42%) before detection of CCALD.

Among the 18 symptomatic patients, 9 (50%) were admitted for behavioral problems. One of these patients was initially diagnosed by family screening but did not present for regular MRI examinations. Another patient had afebrile seizures without apparent school problems at diagnosis. Eight patients (44%) revealed discrete neurological or cognitive abnormalities at examination prior to HSCT. Two of these 8 patients were diagnosed with Addison disease, 2 had missed regular neuroimaging scans, and in 4 patients HSCT was delayed due to rare MRI patterns. The 18 symptomatic patients, with a median (interquartile range [IQR]) age of 9.4 (8.3-11.6) years, were older than the presymptomatic patients (median [IQR] age, 6.7 [5.7-7.0] years) and 14 of 18 underwent HSCT before 2004.

### Survival, Transplant Characteristics, Toxic Effects, and GVHD

Twenty-seven patients (75%) were alive at a median (IQR) follow-up of 108 (40-157) months. The overall 5-year survival rate was 81% (95% CI, 69%-95%). After receiving a bone marrow transplant from a matched family donor, all 9 patients survived. The estimated 10-year survival after a matched unrelated donor transplant was 68% (95% CI, 52%-90%; log-rank, 3.81;  $P = .051$ ). Among the 36 patients, 6 disease-related deaths (17%) and 3 transplant-related deaths (8%) occurred. Two patients died of complications after acute GVHD grade 4: one had received bone marrow and the other peripheral blood stem cells, both from 10 of 10 HLA-matched donors with complete GVHD prophylaxis (rabbit antithymocyte globulin [Fresenius], cyclosporine, and mycophenolate mofetil). The third boy died from late adenovirus reactivation after a cord blood transplant. Death from CCALD progression occurred at a median (range) time of 29 (4-185) months. Two severely progressed, bedridden patients died of pneumonia, 1 at 100 months and another at 185 months after HSCT.

The median (range) time to donor engraftment (absolute neutrophil count  $>500/\mu\text{L}$ ) was 15 (10-32) days after bone marrow transplant and 12 (11-16) days after peripheral blood stem cell transplant ( $P = .03$ ). No graft failures were encountered. Stable donor chimerism ( $>95\%$ ) was observed in 31 of 35 evaluable patients (89%); mixed chimeras were detected only after serotherapy with horse antithymocyte globulin (Genzyme). Hemorrhagic cystitis ( $n = 24$ ) and severe infections greater than grade 2 ( $n = 14$ ) were the most common toxic effects and tended to occur more often in symptomatic patients. Severe central nervous system toxic effects were noticed: seizures with use of busulfan ( $n = 2$ ), posterior reversible encephalopathy syndrome ( $n = 1$ ), and central nervous system hemorrhage ( $n = 1$ ) associated with acute GVHD grade 4. Acute GVHD grade 2 or greater was observed in 9 patients (25%), and extensive chronic GVHD was observed in 8 patients (22%), which was steroid responsive and resolved in 6 of them.

### Outcome According to Clinical Baseline Status

Sixteen of 18 presymptomatic patients (89%) survived, and 13 (72%) had an EFS with a median (IQR) survival time of 49 (37-115) months. Among the symptomatic patients, 11 of 18 (61%) survived, but only 1 was EFS (6%) (median [IQR] EFS time, 9 [3-22] months). Death from X-ALD progression ( $n = 6$ ), development of MFD ( $n = 10$ ), and epilepsy ( $n = 13$ ) occurred only in symptomatic patients, especially in those 10 patients who were admitted because of behavioral or neurological symptoms: 4 died, 8 developed MFD, and 9 had epilepsy. Overall IQ before HSCT did not differ between symptomatic (median [range] IQ, 89 [68-114]) and presymptomatic (median [range] IQ, 94 [77-128])

patients. However, there was a trend of a higher proportion of symptomatic patients with a performance IQ lower than 80 (8 of 18 vs 4 of 18 patients).

Twenty patients (56%) had a normal baseline ALD-DRS, of whom 13 (65%) remained stable. Only 1 of 16 patients (6%), with a baseline ALD-DRS greater than 0 and his brother as the donor, had minimal difficulties at school and maintained his disability level. Of the 7 patients who were progressing despite a normal baseline ALD-DRS, 4 developed GVHD or chronic infection after non-bone marrow transplants, and 3 patients displayed rare demyelination patterns. Eighteen of 21 patients (86%) without previous neurological deficits (NFS = 0) had an MFD-free survival, 17 (81%) did not develop deficits after a transplant (change in NFS = 0), and 15 (71%) had an EFS. All 15 patients with a baseline NFS greater than 0 deteriorated neurologically after HSCT.

Estimates for times and rates of overall survival, MFD-free survival, and EFS of the entire cohort as well as hazard ratios for different covariates are presented in **Table 2** and **eFigure 2** in the **Supplement**. Despite the late deaths among progressed patients, no MFD or progression in ALD-DRS developed later than 38 months after the transplant. In addition to advanced clinical baseline status, transplant complications such as an infection greater than grade 2, acute GVHD grade 2 or greater, and extensive chronic GVHD had an association with negative outcome in a univariable analysis. Furthermore, stable patients (change in ALD-DRS = 0) had an earlier immune reconstitution with more naive T-helper cells (median [range], 17/ $\mu$ L [1-183/ $\mu$ L]; n = 12) at 6 months after HSCT than patients who deteriorated (median [range], 2.5/ $\mu$ L [0-53/ $\mu$ L]; n = 20; *P* < .05).

### Outcome Based on Neuroimaging Before HSCT

Detailed MRI characteristics of the cohort before HSCT and outcome are summarized in **Table 3**. Typical parieto-occipital demyelinating lesions were detected in 22 patients (61%), while 14 patients (39%) showed other demyelination patterns: frontal involvement in 6 patients (17%), and even other patterns in 8 patients (22%). In total, 18 patients (50%) displayed limited parieto-occipital (Loes

Table 2. Analysis of Transplant Outcomes

Variable	No. (%)	Survival		
		Overall	MFD-Free <sup>a</sup>	Event-Free <sup>a</sup>
All patients [events]	36 (100)	[8]	[13]	[22]
Kaplan-Meier Estimates <sup>b</sup>				
Survival times, mo				
Median (IQR)	36 (100)	108 (40-156)	69 (23-131)	26 (9-60)
10-y Survival probability, %				
Mean (95% CI)	36 (100)	77 (64-92)	64 (50-82)	39 (26-59)
Hazard Ratios (95% CI) <sup>c</sup>				
Neurological status at HSCT				
Presymptomatic	18 (50)	0.31 (0.06-1.5)	0.13 (0.03-0.57)	0.12 (0.04-0.33)
NFS $\leq$ 1 <sup>d</sup>	29 (81)	0.29 (0.07-1.2)	0.11 (0.04-0.34)	0.11 (0.04-0.31)
ALD-DRS = 0 <sup>d</sup>	20 (56)	0.43 (0.10-1.8)	0.15 (0.04-0.56)	0.17 (0.07-0.42)
Neuroimaging before HSCT				
Loes score $\geq$ 9 <sup>d</sup>	8 (22)	0.48 (0.06-4.0)	3.0 (1.0-9.1)	4.4 (1.8-10.9)
Cerebellar pattern <sup>e</sup>	4 (11)	12.1 (3.0-49.0)	6.5 (2.0-21.5)	6.2 (1.9-20.9)
Projection fibers involved	21 (58)	1.3 (0.3-5.3)	2.1 (0.6-6.7)	4.0 (1.5-11.1)
Unfavorable MRI	18 (50)	3.2 (0.7-16.1)	8.0 (1.8-36.1)	16.7 (4.7-59.6)
Transplant characteristics				
Related donor	9 (25)	NA <sup>f</sup>	0.20 (0.03-1.5)	0.50 (0.17-1.5)
Bone marrow	26 (72)	0.67 (0.16-2.8)	0.93 (0.29-3.0)	0.84 (0.34-2.1)
Engraftment before day 14 after HSCT	16 (44)	1.2 (0.31-5.0)	1.2 (0.39-3.5)	1.4 (0.62-3.3)
Infection grade $\geq$ 2	14 (39)	5.5 (1.1-27.4)	7.0 (1.9-25.9)	3.0 (1.3-7.0)
Acute GVHD grade $\geq$ 2	9 (25)	6.0 (1.4-25.3)	3.2 (1.1-9.7)	3.0 (1.3-7.1)
Extensive chronic GVHD	8 (22)	7.4 (1.8-31.2)	4.1 (1.3-12.3)	3.3 (1.3-8.5)

Abbreviations: ALD-DRS, adrenoleukodystrophy disability rating score; GVHD, graft-vs-host disease; HSCT, hematopoietic stem cell transplantation; IQR, interquartile range; MFD, major functional disability; MRI, magnetic resonance imaging; NA, not applicable; NFS, neurological function score.

<sup>a</sup> MFD-free is survival without major functional disabilities. Event-free is survival without gain in ALD-DRS.

<sup>b</sup> To allow calculation of 95% CIs, maximum follow-up was limited to 180 months after HSCT (n = 4).

<sup>c</sup> Cox proportional hazards regression of covariates was used for respective outcomes.

<sup>d</sup> ALD-DRS range, 0-4 points; NFS range, 0-25 points (NFS  $\leq$  1: score with maximum 1 deficit), and Loes in this MRI score range, 0-34 points. For all scores, 0 indicates no abnormalities, and higher numbers indicate worsening status.

<sup>e</sup> Cerebellar pattern refers to demyelinating lesions in the cerebellum and/or basal ganglia.

<sup>f</sup> Hazard ratio and 95% CI cannot be calculated due to 100% survival after related bone marrow transplants.



score <9) or frontal (Loes score <4) demyelination before transplant (favorable MRI) and only 3 of them (17%) had a Loes score of 4.5 or greater. None of these patients died of progressive disease or developed MFDs, 15 of them were characterized by stable MRI scans after HSCT, and EFS was 77% (95% CI, 60%-100%). In contrast, all other 18 patients (50%) with more extended parieto-occipital demyelination (n = 6), frontal involvement (n = 4), or other demyelination patterns (n = 8) progressed (unfavorable MRI): 13 patients developed epilepsy and 10 developed MFDs, and their EFS was 0%. A so-defined neuroimaging assessment correlated best with neurocognitive deterioration after transplant (hazard ratio, 16.7; 95% CI, 4.7-59.6). Moreover, 5 of 6 patients with an unfavorable MRI, who died from disease progression, had a baseline Loes score of less than 9. The only 2 patients who displayed gadolinium uptake for more than 6 months after HSCT showed demyelinating lesions in the cerebellum or basal ganglia previously (eFigure 3 in the Supplement). Changes in Loes score, depending on different demyelination patterns, are illustrated in eFigure 4 in the Supplement.

Both MRI demyelination pattern and stem cell source allowed for the division of patients into 4 groups (Figure and Table 4). Patients with favorable MRI patterns who had a matched bone marrow donor (group Ia; n = 11) had an EFS of 100%, whereas patients who received peripheral blood stem cells or cord blood (group Ib; n = 7) had an overall survival and MFD-free survival of 71% (95% CI, 45%-100%) as well as an EFS of 43% (95% CI, 18%-100%). Among the patients with unfavorable neuroimaging, all 4 with demyelination of the cerebellum or basal ganglia died with MFD (group IIa). The other 14 patients with unfavorable MRI (group IIb) had an MFD-free survival of 50% (95% CI, 30%-84%) and an EFS of 0%.

### Discussion

Allogeneic HSCT is currently the standard therapeutic option for patients with CCALD, who reported 5-year survival rates of 56% to 79%.<sup>5,7,9,12,13,27-29</sup> Comparing these studies, we realized that mismatched donors, reduced-intensity chemoconditioning, and cord blood seem to be the risk factors in inferior outcome (eTable in the Supplement). This observation may explain the rather favorable results of this large single-center transplant case series. We report a 5-year survival rate of

Table 3. Brain Magnetic Resonance Imaging (MRI) Characteristics Before and After Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HSCT)

Characteristic	MRI Characteristic (N=36)	
	Favorable, No. (LS)	Unfavorable, No. (LS)
<b>Status Before HSCT</b>		
<b>MRI pattern<sup>a</sup></b>		
Parieto-occipital	16 (LS <9)	6 (LS ≥9)
Frontal involvement	2 (LS <4)	4 (LS ≥4)
Others (n = 8)		
Projection fibers only	NA	2 (LS: 1, 5.5) <sup>b,c</sup>
Cerebellum or basal ganglia	NA	4 (LS: 2.5, 8.5, 8.5, 12.5) <sup>b</sup>
Parieto-occipital + frontal involvement	NA	2 (LS: 8, 10) <sup>b</sup>
<b>Projection fibers involved, No. (%)</b>		
Pons	3 (17)	12 (67) <sup>d</sup>
Capsula interna, partial/complete <sup>e</sup>	5 (28) / 0	7 (39) / 5 (28)
ALD-DRS = 0	17 (94)	1 (6) <sup>d</sup>
NFS = 0	17 (94)	4 (22)
<b>Status After HSCT</b>		
Gadolinium enhancement >6 mo after HSCT, No. (%) <sup>f</sup>	0 of 16	2 of 15 (13)
Stable MRI during first year after HSCT <sup>g</sup>	15 (83)	4 (22) <sup>d</sup>
Epilepsy	0	13 (72) <sup>d</sup>
<b>Change in LS 12 mo After HSCT</b>		
Median (range [IQR])	1.0 (0 to 2.0 [0 to 2.0])	5 (-2.5 to 10.0 [2.5 to 7.0]) <sup>d</sup>

Abbreviations: ALD-DRS, adrenoleukodystrophy disability rating score; IQR, interquartile range; LS, Loes score; NA, not applicable; NFS, neurological function score.

<sup>a</sup> Demyelination patterns according to Loes et al<sup>25</sup> with modifications. Greater LS numbers indicate more demyelinating lesions.

<sup>b</sup> Loes score of respective patients.

<sup>c</sup> Patient 26 with demyelination of brainstem only without gadolinium enhancement.

<sup>d</sup> Significance level (P < .05) between favorable and unfavorable for a respective characteristic.

<sup>e</sup> Capsula interna partial is the incomplete or unilateral demyelination of tracts in the internal capsule.

<sup>f</sup> All patients with transplant-related mortality and those who died within 12 months of disease progression were omitted (n = 5).

<sup>g</sup> Change in LS of at least 2 points in the first year after HSCT.

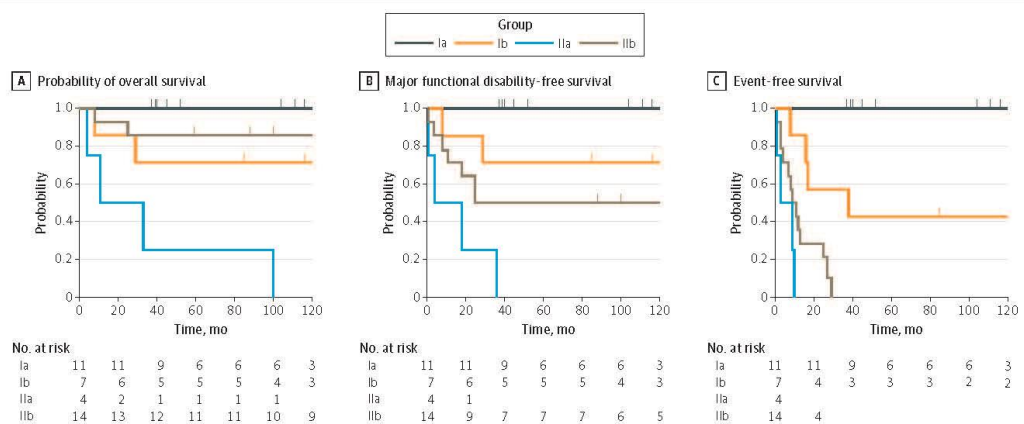
81%, an observed transplant-related mortality of 8%, and no graft failures after matched donor transplant using a uniform myeloablative chemoconditioning. In addition, no veno-occlusive disease occurred in this series even though busulfan was administered without therapeutic drug monitoring.

Previous studies of HSCT in CCALD focused on risk factors for survival.<sup>5,7</sup> Recently, MFD-free survival was introduced to characterize patients for whom treatment would prevent progression to major functional deficits.<sup>19</sup> Demanding treatment modalities, such as HSCT, should also allow for neurocognitive stability. Therefore, we also used the robust ALD-DRS<sup>5</sup> as an important outcome measure. The ALD-DRS reflects the need for assistance in daily life, especially at school. An EFS, as defined, indicates a stable school performance after a transplant. Only 14% of all patients with CCALD in the first international multicenter transplant cohort did not need any assistance before HSCT,<sup>5</sup> but 56% of patients in our series had a normal baseline ALD-DRS, of whom 65% did not deteriorate after the transplant. None of the stable patients developed seizures or MFDs, deteriorated in their overall IQ, or showed progressive demyelination. The disability score may not necessarily detect subtle changes in some domains of the IQ,<sup>30</sup> but a normal ALD-DRS precludes a relevant impairment in daily life activities and guarantees a self-determined life.

The uniform chemoconditioning allowed the analysis of the association of transplant factors with outcome: survival tended to be inferior after unrelated transplant. Even more important, absence of GVHD and relevant infections were associated with superior MFD-free survival and EFS. In addition, stable patients showed an earlier immune reconstitution. The absence of transplant-associated alloreaactions may facilitate the exchange of bone marrow-derived donor macrophages in the brain and therefore allow for improved neurocognitive outcome. This possibility might also explain the inferior EFS of patients who received stem cell sources other than bone marrow, which were associated with faster engraftment, more GVHDs, and infections.

Not unexpected was that the baseline neuroimaging status was associated with posttransplant results. A Loes score of less than 9 to 10 has already been described as a critical cutoff score and a factor in superior survival, provided patients have a parieto-occipital demyelination pattern.<sup>5,7</sup> However, 14 patients (39%) in this cohort showed other demyelination patterns, a proportion that is in agreement with the proportion observed in other series,<sup>26</sup> and the Paris cohort according to P. Aubourg, MD, PhD (written communication, March 2018). Disease-related deaths occurred only among patients with nonparieto-occipital patterns; 5 of those 6 patients had baseline Loes scores of

Figure. Probability of Survival for Patients with Childhood Cerebral X-linked Adrenoleukodystrophy



Patients were stratified by neuroimaging before transplant and stem cell source. Group Ia (n = 11) comprised patients with favorable magnetic resonance imaging (MRI) and bone marrow donor; group Ib (n = 7), favorable MRI and other stem cell source; group IIa (n = 4), demyelination of cerebellum or basal ganglia; and group IIb (n = 14), other unfavorable MRI. Marks indicate censored patients.

less than 9. In particular, all 4 patients with demyelinating lesions in the cerebellum or basal ganglia died, indicating a reduced association with HSCT in this uncommon MRI pattern. Because of the small number of patients analyzed in this study, whether this finding reflects a specific pathomechanism remains unclear. However, both the Loes score per se and the location of the demyelinating lesion are obviously important and thus may be a factor in clinical outcome. Therefore, we introduced a differentiated MRI assessment in which a Loes score of less than 9 was considered favorable for only parieto-occipital demyelination. A similar cutoff score was lowered to a Loes score of less than 4 for frontal patterns. All other rare demyelination patterns were considered unfavorable. An unfavorable MRI, as defined, became the best single indicator for neurocognitive deterioration and poorer school performance after HSCT. Our corresponding definition of favorable MRI, closely associated with stable outcome, may contradict a recent study, which found that a baseline Loes score of 4.5 or greater was already indicative of a substantial impairment in several neurocognitive tasks after a transplant.<sup>30</sup> However, in our analysis, only 3 of 18 patients (17%) with favorable MRI patterns had a Loes score of 4.5 or greater.

In this case series, patients best suited for a transplant were only identified by family screening and Addison disease. In particular, patients diagnosed as family members had a fair chance to be regularly monitored before the onset of CCALD. However, motivating these patients to undergo MRI scans every 6 months remains a challenge. Eichler et al<sup>19</sup> recently reported an outstanding MFD-free survival rate of 88% after gene therapy for CCALD in a group of well-selected patients without

Table 4. Patient Characteristics and Outcome by Different Subgroups

Variable	All Patients, No. (%) (N = 36)	Patients, No.			
		Favorable Neuroimaging		Unfavorable Neuroimaging	
		Bone Marrow (n = 11), Group Ia	Peripheral Stem Cells or Cord Blood (n = 7), Group Ib	With Demyelination of Cerebellum or Basal Ganglia (n = 4), Group IIa	Other MRI (n = 14), Group IIb
<b>Neurological status at HSCT</b>					
Presymptomatic	18 (50)	10	7	0	1
NFS ≤1 <sup>a</sup>	29 (81)	11	7	2	9
ALD-DRS = 0 <sup>a</sup>	20 (56)	10	7	1	2
<b>Neuroimaging before HSCT</b>					
Loes score ≥9 <sup>a</sup>	8 (22)	0	0	1	7
Parieto-occipital pattern	22 (61)	9	7	0	6
Projection fibers involved	21 (58)	4	1	3	13
<b>Transplant characteristics</b>					
Transplant before 2004	21 (58)	4	4	4	9
Related donor	9 (25)	5	0	0	4
Bone marrow	26 (72)	11	0	3	12
Engraftment before day 14 after HSCT	16 (44)	4	4	1	7
Donor chimerism >95%	31 (89) <sup>b</sup>	9 <sup>b</sup>	7	3	12
Infection grade >2	14 (39)	2	3	2	7
Acute GVHD grade ≥2	9 (25)	0	2	2	5
<b>Outcome</b>					
Transplant-related deaths	3 (8)	0	2	0	1
Disease-related deaths	6 (17)	0	0	4	2
Major functional disabilities	10 (28)	0	0	4	6
Event-free survivors	14 (39)	11	3	0	0
Event-free survival time, median (IQR), mo <sup>c</sup>	26 (9-60)	104 (45-121)	38 (17-132)	6 (2.5-9.2)	10 (4.8-22)

Abbreviations: ALD-DRS, adrenoleukodystrophy disability rating score; GVHD, graft-vs-host disease; HSCT, hematopoietic stem cell transplantation; IQR, interquartile range; MRI, magnetic resonance imaging; NFS, neurological function score.

<sup>a</sup> ALD-DRS range, 0-4 points; NFS range, 0-25 points (NFS ≤1: score with maximum 1 deficit), and Loes MRI score range, 0-34 points. For all scores: 0 indicates no abnormalities, and higher numbers indicate worsening status.

<sup>b</sup> Donor chimerism: determined in only of 35 patients (1 patient from group Ia was missing).

<sup>c</sup> Kaplan-Meier estimates.

neurological deficits. An equivalent subgroup in this series achieved an MFD-free survival rate of 86%. These data argue most convincingly in favor of introducing newborn screening to be able to offer therapeutic options in time to all at-risk patients with X-ALD.

### Limitations

This study bears some limitations in that it is a retrospective case series and, due to the small size, explorative. The chemoconditioning used is known to be neurotoxic. Therefore, newer toxicity-reduced regimens, such as busulfan and fludarabine phosphate, may have been better for patients with advanced disease. Performing transplants on symptomatic patients was primarily stopped in the past because of poor results. However, we cannot exclude the possibility that presymptomatic patients who underwent transplants recently may show improvements in therapy. Furthermore, the clinical relevance of our new MRI categorization will have to be validated in a larger series. However, the identification of distinct risk groups in this series provides a basis for future prospective multicenter trials.

### Conclusions

Gene therapy has great promise,<sup>18,19,31</sup> and HSCT is likely to remain an important treatment option in the near future. This study indicates that HSCT may be of most value to patients with favorable neuroimaging and matched bone marrow donors. However, patients who receive other stem cell sources may be at substantial risk for deterioration even with favorable baseline neuroimaging. In the near future, gene therapy may be an effective treatment for these patients. Patients with rare demyelination patterns, especially those with cerebellar or basal ganglia involvement, did very poorly for yet unknown reasons and should be considered for treatment options other than HSCT.

### ARTICLE INFORMATION

**Accepted for Publication:** April 10, 2018.

**Published:** July 20, 2018. doi:10.1001/jamanetworkopen.2018.0769

**Open Access:** This is an open access article distributed under the terms of the [CC-BY License](#). © 2018 Kühl J-S et al. *JAMA Network Open*.

**Corresponding Author:** Jörn-Sven Kühl, MD, Department of Pediatric Hematology/Oncology/Hemostaseology, University Hospital Leipzig, Liebigstraße 20a, 04103 Leipzig, Germany ([joern-sven.kuehl@medizin.uni-leipzig.de](mailto:joern-sven.kuehl@medizin.uni-leipzig.de)).

**Author Affiliations:** Department of Pediatric Hematology/Oncology/Hemostaseology, University Hospital Leipzig, Leipzig, Germany (Kühl); Department of Pediatric Oncology/Hematology/SCT, Charité Campus Virchow-Klinikum, Berlin, Germany (Kupper, Ebell, Steffen, Voigt); Department of Pediatric Neurology, Charité Campus Virchow-Klinikum, Berlin, Germany (Baqué, Weschke); Department of Pediatric Neurology, University Medical Center Göttingen, Göttingen, Germany (Gärtner, Weddige, Steinfeld); Department of Pediatric Neurology, Klinikum Oldenburg, Oldenburg, Germany (Korenke); Department of Pediatric Radiology, Charité Campus Virchow-Klinikum, Berlin, Germany (Spors); Department of Pediatrics, Helios-Klinikum Berlin-Buch, Berlin, Germany (Strauss); Department of Neurology, University Hospital Leipzig, Leipzig, Germany (Köhler).

**Author Contributions:** Dr Kühl had full access to all of the data in the study and takes responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis.

**Study concept and design:** Kühl, Ebell, Gärtner, Köhler, Steinfeld.

**Acquisition, analysis, or interpretation of data:** Kühl, Kupper, Baqué, Ebell, Gärtner, Korenke, Spors, Steffen, Strauss, Voigt, Weschke, Weddige, Köhler.

**Drafting of the manuscript:** Kühl, Kupper.

**Critical revision of the manuscript for important intellectual content:** Kühl, Baqué, Ebell, Gärtner, Korenke, Spors, Steffen, Strauss, Voigt, Weschke, Weddige, Köhler, Steinfeld.

**Statistical analysis:** Kühl, Steffen, Voigt.

**Obtained funding:** Gärtner.

*Administrative, technical, or material support:* Kühl, Kupper, Baqué, Ebell, Gärtner, Korenke, Strauss, Weddige, Köhler, Steinfeld.

*Study supervision:* Ebell, Gärtner, Spors, Köhler, Steinfeld.

**Conflict of Interest Disclosures:** Dr Kühl reported receiving honoraria from bluebird bio and MSD as well as honoraria and travel support from Jazz Pharmaceuticals. No other disclosures were reported.

**Additional Contributions:** Marion Nagy, MD, PhD, Charité Universitätsmedizin Berlin, provided laboratory expertise in performing DNA chimerism. ELA Germany and Myelin Project, Germany, provided support to the patients and families in this study. They did not receive compensation for their contributions.

## REFERENCES

1. Moser HW. Adrenoleukodystrophy: phenotype, genetics, pathogenesis and therapy. *Brain*. 1997;120(pt 8):1485-1508. doi:10.1093/brain/120.8.1485
2. Engelen M, Kemp S, de Visser M, et al. X-linked adrenoleukodystrophy (X-ALD): clinical presentation and guidelines for diagnosis, follow-up and management. *Orphanet J Rare Dis*. 2012;7:51. doi:10.1186/1750-1172-7-51
3. Wiesinger C, Eichler FS, Berger J. The genetic landscape of X-linked adrenoleukodystrophy: inheritance, mutations, modifier genes, and diagnosis. *Appl Clin Genet*. 2015;8:109-121. doi:10.2147/TACG.S49590
4. Turk BR, Moser AB, Fatemi A. Therapeutic strategies in adrenoleukodystrophy. *Wien Med Wochenschr*. 2017;167(9-10):219-226. doi:10.1007/s10354-016-0534-2
5. Peters C, Charnas LR, Tan Y, et al. Cerebral X-linked adrenoleukodystrophy: the international hematopoietic cell transplantation experience from 1982 to 1999. *Blood*. 2004;104(3):881-888. doi:10.1182/blood-2003-10-3402
6. Shapiro E, Krivit W, Lockman L, et al. Long-term effect of bone-marrow transplantation for childhood-onset cerebral X-linked adrenoleukodystrophy. *Lancet*. 2000;356(9231):713-718. doi:10.1016/S0140-6736(00)02629-5
7. Miller WP, Rothman SM, Nascene D, et al. Outcomes after allogeneic hematopoietic cell transplantation for childhood cerebral adrenoleukodystrophy: the largest single-institution cohort report. *Blood*. 2011;118(7):1971-1978. doi:10.1182/blood-2011-01-329235
8. Baumann M, Korenke GC, Weddige-Diedrichs A, et al. Haematopoietic stem cell transplantation in 12 patients with cerebral X-linked adrenoleukodystrophy. *Eur J Pediatr*. 2003;162(1):6-14. doi:10.1007/s00431-002-1097-3
9. Beam D, Poe MD, Provenzale JM, et al. Outcomes of unrelated umbilical cord blood transplantation for X-linked adrenoleukodystrophy. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2007;13(6):665-674. doi:10.1016/j.bbmt.2007.01.082
10. Aubourg P, Blanche S, Jambaqué I, et al. Reversal of early neurologic and neuroradiologic manifestations of X-linked adrenoleukodystrophy by bone marrow transplantation. *N Engl J Med*. 1990;322(26):1860-1866. doi:10.1056/NEJM199006283222607
11. Mahmood A, Raymond GV, Dubey P, Peters C, Moser HW. Survival analysis of haematopoietic cell transplantation for childhood cerebral X-linked adrenoleukodystrophy: a comparison study. *Lancet Neurol*. 2007;6(8):687-692. doi:10.1016/S1474-4422(07)70177-1
12. Kato S, Yabe H, Takakura H, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for inborn errors of metabolism: a report from the Research Committee on Transplantation for Inborn Errors of Metabolism of the Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare and the Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *Pediatr Transplant*. 2016;20(2):203-214. doi:10.1111/ptr.12672
13. van den Broek BTA, Page K, Paviglianiti A, et al. Early and late outcomes after cord blood transplantation for pediatric patients with inherited leukodystrophies. *Blood Adv*. 2018;2(1):49-60. doi:10.1182/bloodadvances.2017010645
14. Cartier N, Lewis CA, Zhang R, Rossi FM. The role of microglia in human disease: therapeutic tool or target? *Acta Neuropathol*. 2014;128(3):363-380. doi:10.1007/s00401-014-1330-y
15. Moser HW, Mahmood A. New insights about hematopoietic stem cell transplantation in adrenoleukodystrophy. *Arch Neurol*. 2007;64(5):631-632. doi:10.1001/archneur.64.5.631
16. Schönberger S, Roerig P, Schneider DT, Reifenberger G, Göbel U, Gärtner J. Genotype and protein expression after bone marrow transplantation for adrenoleukodystrophy. *Arch Neurol*. 2007;64(5):651-657. doi:10.1001/archneur.64.5.noc60105
17. Capotondo A, Milazzo R, Politi LS, et al. Brain conditioning is instrumental for successful microglia reconstitution following hematopoietic stem cell transplantation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(37):15018-15023. doi:10.1073/pnas.1205858109
18. Cartier N, Hacein-Bey-Abina S, Bartholomae CC, et al. Hematopoietic stem cell gene therapy with a lentiviral vector in X-linked adrenoleukodystrophy. *Science*. 2009;326(5954):818-823. doi:10.1126/science.1171242

19. Eichler F, Duncan C, Musolino PL, et al. Hematopoietic stem-cell gene therapy for cerebral adrenoleukodystrophy. *N Engl J Med*. 2017;377(17):1630-1638. doi:10.1056/NEJMoal700554
20. Kemper AR, Brocco J, Comeau AM, et al. Newborn screening for X-linked adrenoleukodystrophy: evidence summary and advisory committee recommendation. *Genet Med*. 2017;19(1):121-126. doi:10.1038/gim.2016.68
21. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA*. 2013;310(20):2191-2194. doi:10.1001/jama.2013.281053
22. Peters C, Steward CG; National Marrow Donor Program; International Bone Marrow Transplant Registry; Working Party on Inborn Errors, European Bone Marrow Transplant Group. Hematopoietic cell transplantation for inherited metabolic diseases: an overview of outcomes and practice guidelines. *Bone Marrow Transplant*. 2003;31(4):229-239. doi:10.1038/sj.bmt.1703839
23. Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, et al. 1994 Consensus conference on acute GVHD grading. *Bone Marrow Transplant*. 1995;15(6):825-828.
24. Shulman HM, Sullivan KM, Weiden PL, et al. Chronic graft-versus-host syndrome in man: a long-term clinicopathologic study of 20 Seattle patients. *Am J Med*. 1980;69(2):204-217. doi:10.1016/0002-9343(80)90380-0
25. Loes DJ, Hite S, Moser H, et al. Adrenoleukodystrophy: a scoring method for brain MR observations. *AJNR Am J Neuroradiol*. 1994;15(9):1761-1766.
26. Loes DJ, Fatemi A, Melhem ER, et al. Analysis of MRI patterns aids prediction of progression in X-linked adrenoleukodystrophy. *Neurology*. 2003;61(3):369-374. doi:10.1212/01.WNL.0000079050.91337.83
27. Tran C, Patel J, Stacy H, et al. Long-term outcome of patients with X-linked adrenoleukodystrophy: a retrospective cohort study. *Eur J Paediatr Neurol*. 2017;21(4):600-609. doi:10.1016/j.ejpn.2017.02.006
28. Mitchell R, Nivison-Smith I, Anazodo A, et al. Outcomes of hematopoietic stem cell transplantation in primary immunodeficiency: a report from the Australian and New Zealand Children's Haematology Oncology Group and the Australasian Bone Marrow Transplant Recipient Registry. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013;19(3):338-343. doi:10.1016/j.bbmt.2012.11.619
29. Fernandes JF, Bonfim C, Kerbauy FR, et al. Haploidentical bone marrow transplantation with post transplant cyclophosphamide for patients with X-linked adrenoleukodystrophy: a suitable choice in an urgent situation. *Bone Marrow Transplant*. 2018;53(4):392-399. doi:10.1038/s41409-017-0015-2
30. Pierpont EI, Eisengart JB, Shanley R, et al. Neurocognitive trajectory of boys who received a hematopoietic stem cell transplant at an early stage of childhood cerebral adrenoleukodystrophy. *JAMA Neurol*. 2017;74(6):710-717. doi:10.1001/jamaneurol.2017.0013
31. Cartier N, Hacein-Bey-Abina S, Bartholomae CC, et al. Lentiviral hematopoietic cell gene therapy for X-linked adrenoleukodystrophy. *Methods Enzymol*. 2012;507:187-198. doi:10.1016/B978-0-12-386509-0.00010-7

#### SUPPLEMENT

eFigure 1. Time Course of Stem Cell Transplants

eAppendix. Definitions Used in the Study

eFigure 2A. Probability of 10-Year Overall Survival

eFigure 2B. Probability of Survival Without Major Functional Disabilities

eFigure 2C. Probability of Event-Free Survival (ie, Survival Without Gain in Disability Level)

eFigure 3. Favorable (A) and Unfavorable (B-D) Neuroimages

eFigure 4. Demyelinating Lesions in Neuroimaging

eTable. Overview on Retrospective Transplant Studies and Prospective Gene Therapy Study for CCALD

## Supplementary Online Content

Kühl J-S, Kupper J, Baqué H, et al. Potential risks to stable long-term outcome of allogeneic stem cell transplantation for children with cerebral X-linked adrenoleukodystrophy. *JAMA Netw Open*. 2018;1(3):e180769. doi:10.1001/jamanetworkopen.2018.0769

**eFigure 1.** Time Course of Stem Cell Transplants

**eAppendix.** Definitions Used in the Study

**eFigure 2A.** Probability of 10-Year Overall Survival

**eFigure 2B.** Probability of Survival Without Major Functional Disabilities

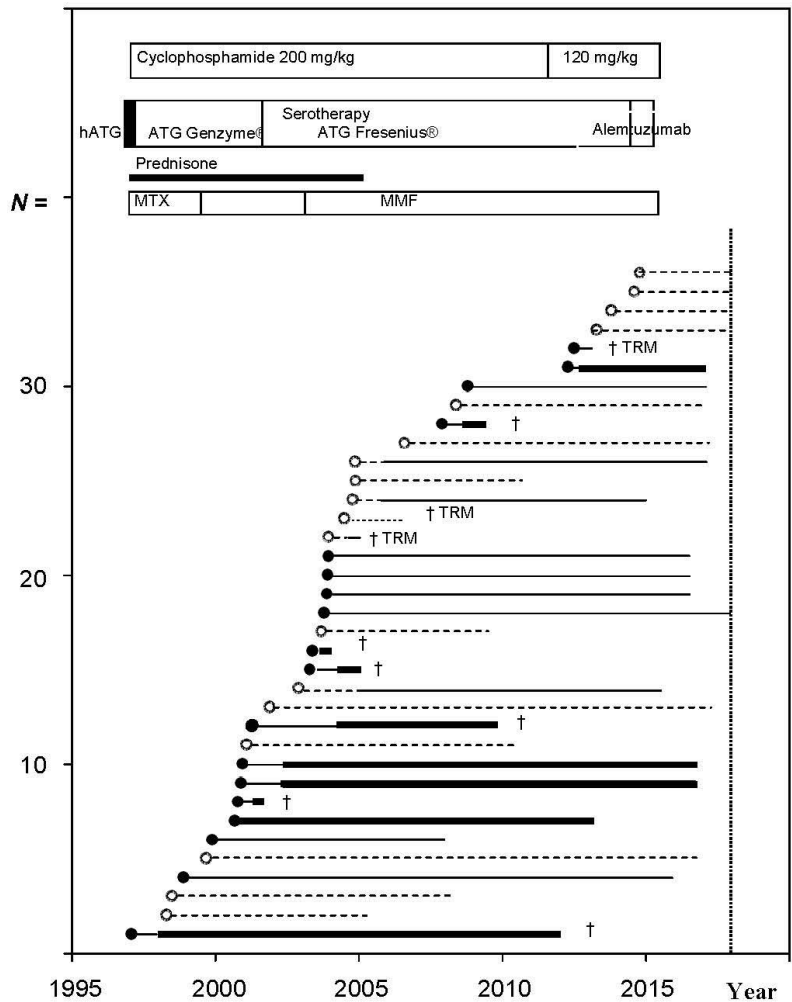
**eFigure 2C.** Probability of Event-Free Survival (ie, Survival Without Gain in Disability Level)

**eFigure 3.** Favorable (A) and Unfavorable (B-D) Neuroimages

**eFigure 4.** Demyelinating Lesions in Neuroimaging

**eTable.** Overview on Retrospective Transplant Studies and Prospective Gene Therapy Study for CCALD

This supplementary material has been provided by the authors to give readers additional information about their work.



**Figure 1.** Time Course of Stem Cell Transplants

Shown are the time points for transplantation with follow-up of all 36 patients. Changes in cyclophosphamide (dose reduction since 2012), serotherapy (ATG Genzyme® in patients 2-12, ATG Fresenius® in patients 13-34, alemtuzumab in patients 35-36) and other graft-versus-host prophylaxis (MTX in patients 1-6, prednisone in most patients until 2004 ( $N=18$ ) and MMF in some patients since 2003 ( $N=8$ )) are indicated above.

hATG: horse anti-thymocyte globulin; MTX: methotrexate; MMF: mycophenolate mofetil; TRM: transplant-related mortality. Closed circles: symptomatic patients; open circles: pre-symptomatic patients at transplant; fine lines: symptomatic follow-up; bars: development of major functional disabilities; broken lines: pre-symptomatic follow-up; †: deceased patients. The dotted vertical line indicates end of study.

© 2018 Kühl J-S et al. *JAMA Network Open*.



## eAppendix. Definitions Used in the Study

**Major functional disabilities (MFD)** (Eichler F et al., *N Engl J Med.* 2017; 377: 1630):

Status with any of the following:

- loss of communication
- cortical blindness
- tube feeding
- wheelchair bound
- no voluntary movements
- total incontinence

**MFD-free survival** – Survival without any MFD.

**Event-free survival (EFS)** – Survival without any deterioration in ALD disability rating score (ALD-DRS) [baseline ALD-DRS = 4 excluded]. Any deterioration in school performance (including repeating class or change to less demanding school) or significant deterioration in overall, verbal or performance IQ ( $\Delta IQ > 14$ ) was considered as change in ALD-DRS.

**MRI patterns** (modified from Loes DJ et al., *Neurology.* 2003; 61: 369):

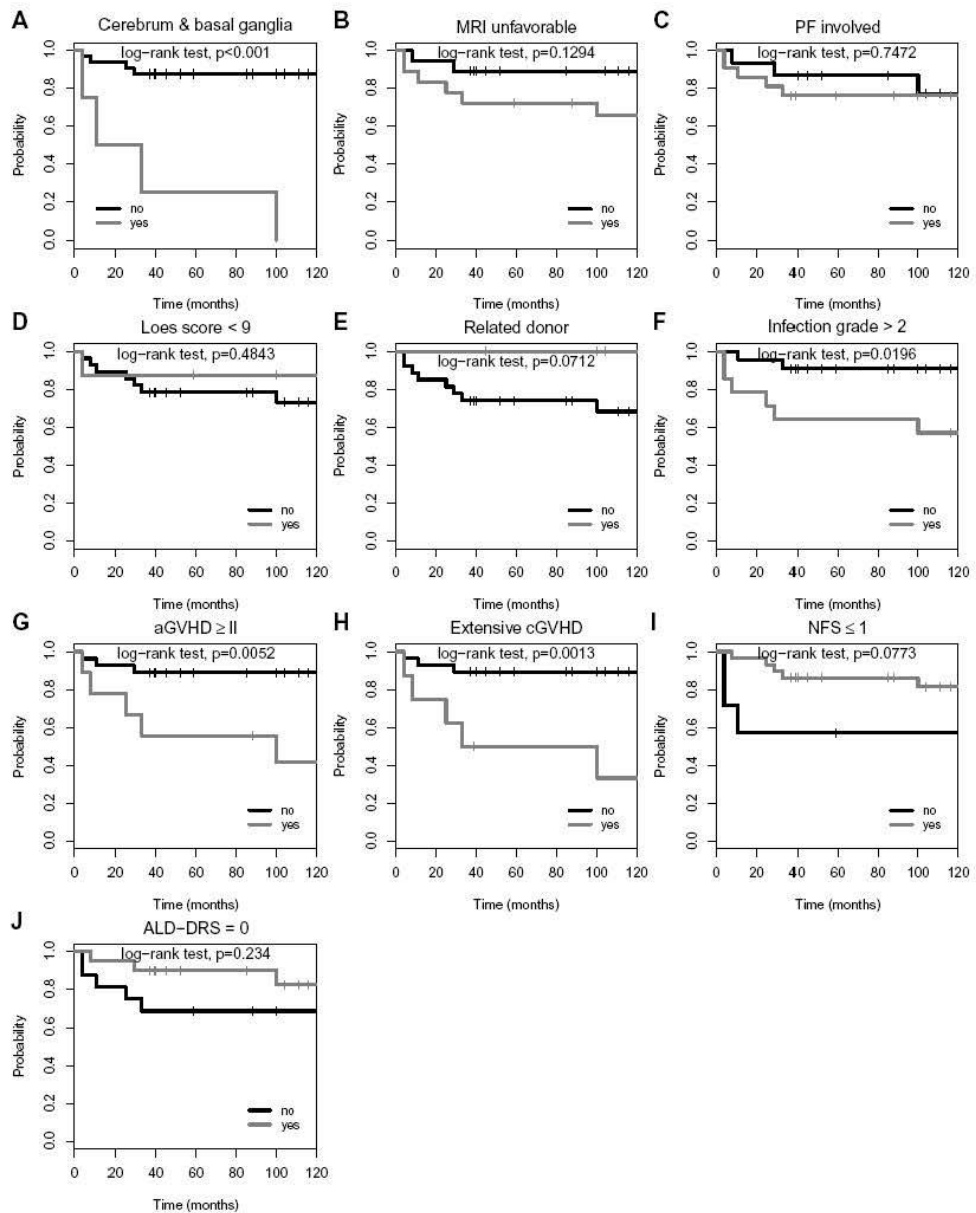
- #1: parietooccipital (including splenium corporis callosum)
- #2: frontal (including genu corporis callosum)
- #3 long-tract fibers only
- #4 cerebellum **and all patterns with basal ganglia involvement (modification)**
- #5 parietooccipital and frontal (or splenium and genu involved)

**Favorable MRI** – Pattern #1 with Loes score  $< 9$  or pattern #2 with Loes score  $< 4$ .

**Unfavorable MRI** – More advanced patterns 1 & 2 or all other, rare patterns.

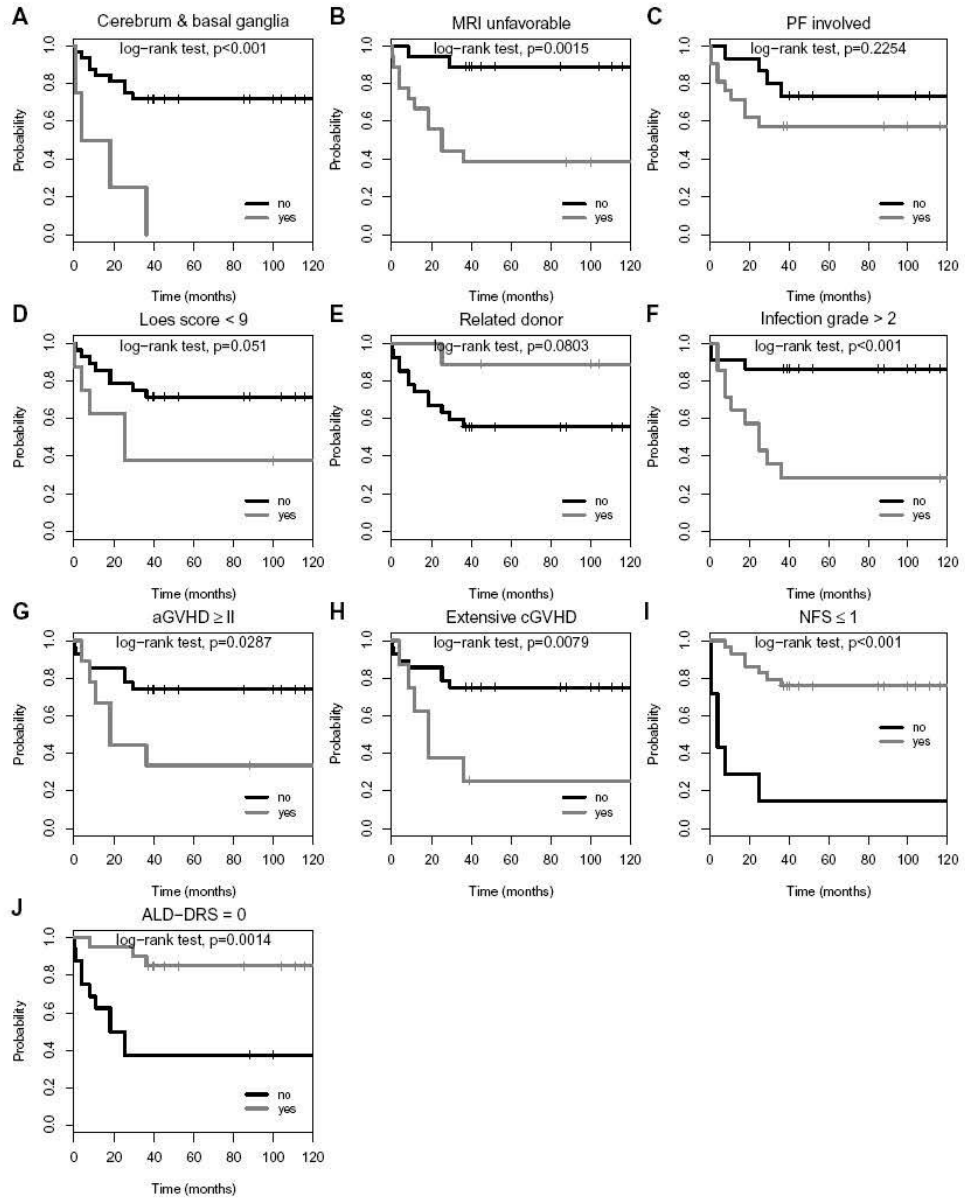
**Stable MRI post-HSCT** – Gain  $\leq 2$  points in Loes score ( $\Delta$ Loes score  $\leq 2$ ) within the first year post-transplant in the absence of Gadolinium enhancement.

**Progressive MRI post-HSCT** – Anything different from stable.



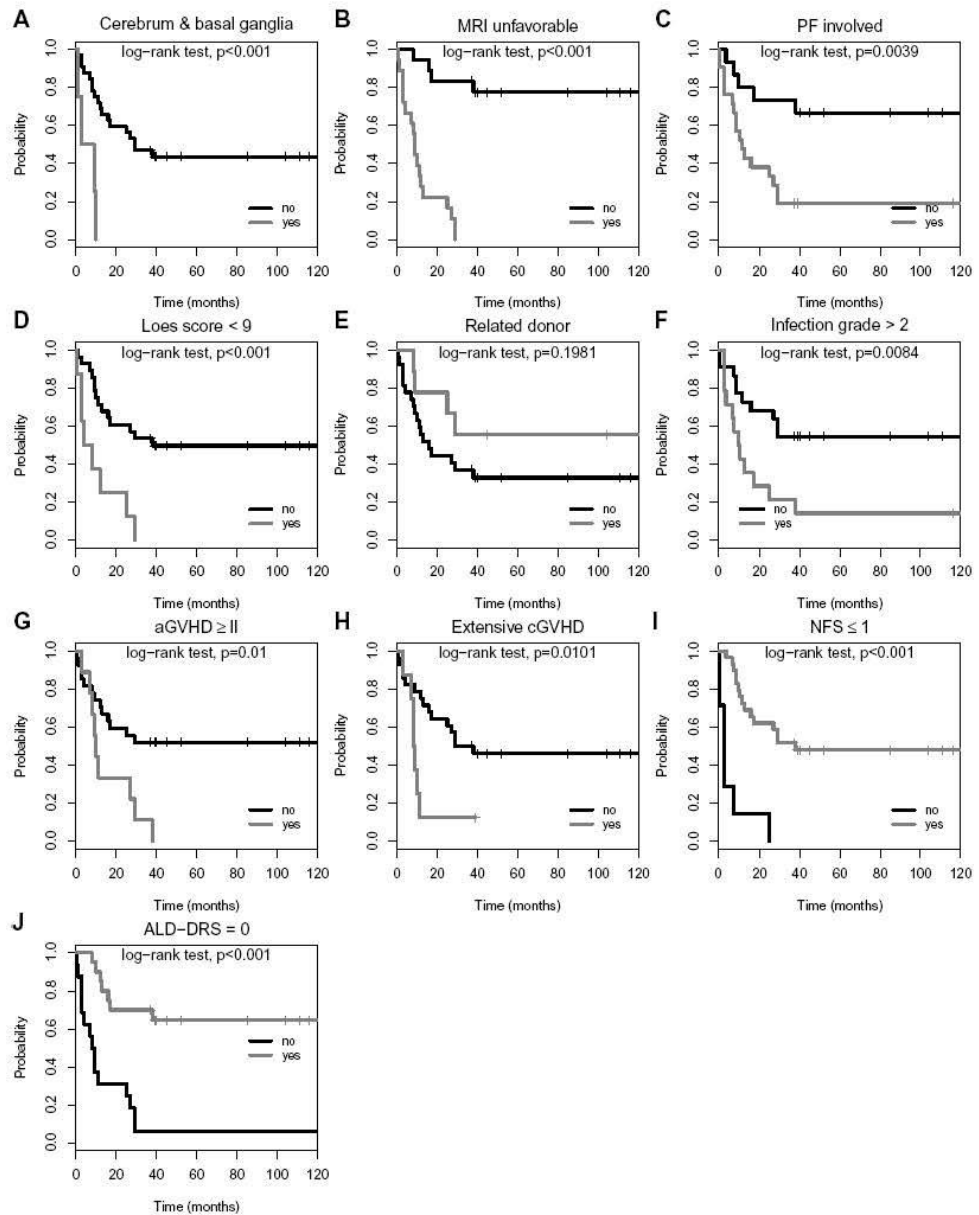
**Figure 2A.** Probability of 10-Year Overall Survival

Patients were stratified by respective covariates as indicated. Parameter present: grey line; parameter absent: black line. Dashes indicate censored patients.

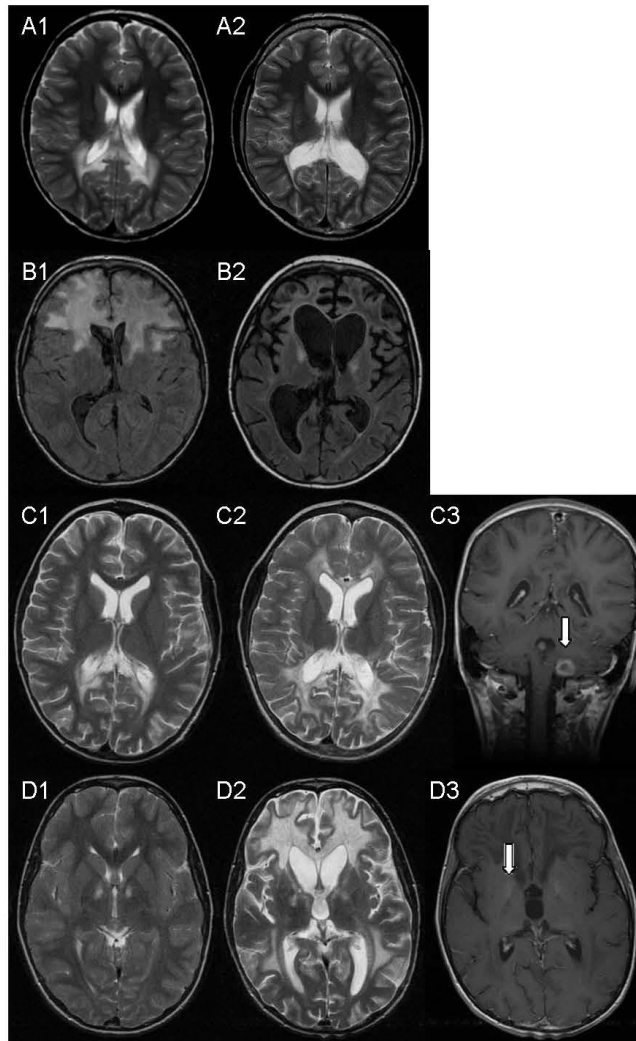


**eFigure 2B.** Probability of Survival Without Major Functional Disabilities

Patients were stratified by respective covariates as indicated. Parameter present: grey line; parameter absent: black line. Dashes indicate censored patients.



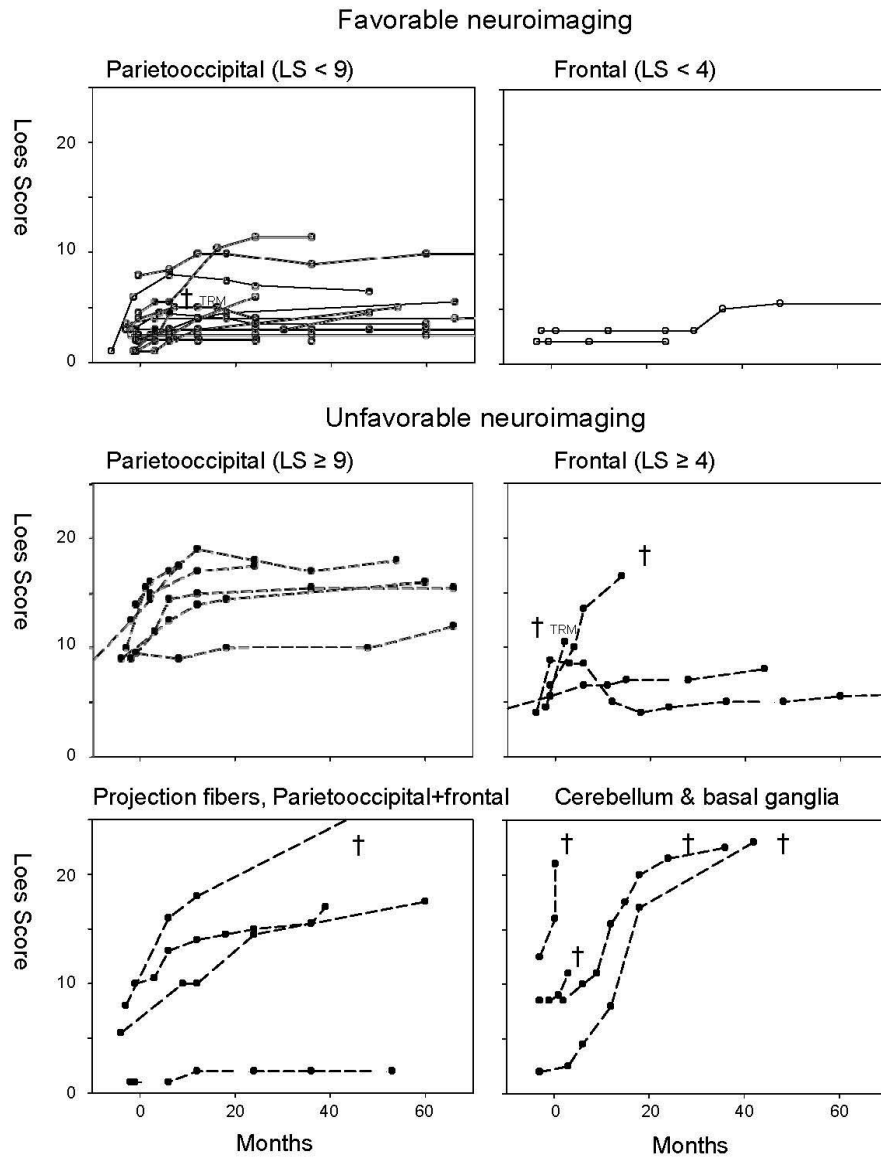
**eFigure 2C.** Probability of Event-Free Survival (i.e. Survival Without Gain in Disability Level) Patients were stratified by respective covariates as indicated. Parameter present: grey line; parameter absent: black line. Dashes indicate censored patients.



**Figure 3.** Favorable (A) and Unfavorable (B-D) Neuroimages

**A:** T2-weighted axial magnetic resonance images of classical parietooccipital pattern before (A1; Loes score (LS) = 8.0) and 89 months post-transplant (A2; LS = 10). Only local atrophy, stable neurocognition. **B:** FLAIR images of frontal pattern before (B1; LS = 6.5) and 14 months post-transplant (B2; LS = 16.5). Severe global atrophy with frontal predominance. Death from disease progression after 25 months. **C:** T2-weighted images of a pattern with cerebellar involvement: in comparison to 2 months post-transplant (C1; LS = 8.5), at 22 months (C2; LS = 22) both parietooccipital and frontal new white matter lesions. The coronar T1 image (C3) reveals persistent cerebellar Gadolinium uptake 8 months post-transplant (arrow). Progression and death 100 months post-transplant. **D:** T2-weighted images of a pattern affecting the anterior thalamus and projection fibers before (D1; LS = 2) and 19 months post-transplant (D2; LS = 17). Severe increment of white matter demyelination is observed. The T1 image (D3) of the latter examination demonstrates sustained Gadolinium uptake (arrow). Dramatic clinical deterioration and death after 33 months.

© 2018 Kühl J-S et al. *JAMA Network Open*.



**eFigure 4. Demyelinating Lesions in Neuroimaging**  
 Illustrated are the individual Loes scores (LS) of all 36 patients at various time points. Patients are separated for different MRI patterns and the extent of demyelination. The Loes score ranges from 0 - 34 points and increases with the number of demyelinating lesions. Therapy related deaths († TRM; 2 patients with parietooccipital pattern and LS < 9, 1 patient with frontal pattern and LS ≥ 4) as well as deaths from disease progression are indicated.

eTable. Overview on Retrospective Transplant Studies and Prospective Gene Therapy Study for CCALD

Study	All/early pts. (N=)	Transplantation	Conditioning	Graft failure	Acute GVHD	TRM	OS	Neuro(psycho)logical stable survival
Peters C et al., 2004 Multi-center	94 NFS=0: 32 ALD-DRS=0: 13	Matched related 33 Matched unrelated 31 BM 82, CB 12	BuCy 47 TBI-based 46	13/80 (14 %)	12 % (Grade III-IV)	14 %	56 % @8 yr	ΔNFS=0: 18/32 (56 %) ΔALD-DRS=0: 7/13 (54 %)
Beam D et al., 2007 Single center	12 LS<10: 6	Unrelated cord blood	BuCy only	1	2 (Grade III-IV)	2	67% @3 mo	5 (42 %)
Miller W et al., 2011 Single center	60 NFS=0: 23 LS<10: 30	(Un)related BM (10)18 Unrelated CB 32 Matched 27	BuCy 28 TBI/Cy 16 RIC 16	3 (deceased only)	18 % (Grade II-IV)	8 % @d+100	47/ 60 75 % @5 yr	ΔNFS=0: >75%
Kato S et al., 2016 Registry report *	84 including adults	(Un)related BM * Unrelated CB	BuCy* RIC	18 %	NR	NR	79 %	NR
Mitchell R et al., 2013 Registry report **	15 Status NR	NR** [BM 47 %]	BuCy	1	NR** [III-IV: 14 %]	NR** [19 %@1 yr]	73 % @5 yr	NR
Van den Broek B et al., 2018 Multi-center ***	56 no neuropathy: 31	Unrelated cord blood	BuCy (83%)	NR*** [12 %]	NR*** [III-IV: 20 %]	NR*** [25 %]	35/56 @6 yr (63 %)	Stable neuropathy: 24/48 (50 %)
Fernandes J et al., 2018 Two centers	9 Loes <10: 4	Haploidentical	RIC only	4	2 (Grade III-IV)	1	8/9 FU 29 mo.	NFS=0: 3/9 (one pt. with LS=21)
Kühl J et al. Single center	36 NFS=0: 21 ALD-DRS=0: 20	Matched related 9 Matched unrelated 27 BM 26, PBSC 9, CB 1	Bu/Cy only	0	3 (8 %) (Grade III-IV)	3 (8 %)	27/36 81 % @8 yr	ΔNFS=0: 17/21 (81 %) ΔALD-DRS=0: 13/20 (65 %)
Eichler F et al., 2017 Multi-center	17 All NFS=0	Autologous PBSC (Lentivirus-transfected)	BuCy only	0	0	0	15/17 FU 29 mo.	ΔNFS=0: 12/17 (71 %)

Early pts.: Patients with early/less advanced disease as indicated (NFS=0: normal neurological function score; ALD-DRS=0: no ALD-related disability; LS<10: Loes score < 10 points (possible range 0 – 34, maximum indicates worst status)). Transplantation: BM: bone marrow; CB: cord blood; PBSC: peripheral blood stem cells. Conditioning: BuCy: busulfan/cyclophosphamide; TBI: total body irradiation; RIC: reduced intensity conditioning. GVHD: graft-versus-host disease. TRM: transplant-related mortality at indicated time (days/years). OS: overall survival at indicated time (months/years); FU: follow-up. ΔNFS=0/ ΔALD-DRS=0: no gain in deficits/disabilities for those patients without deficits/disabilities prior to treatment. \*Kato S et al., NR not reported, specific numbers not reported. \*\*Mitchell R et al.: specific numbers not reported (in brackets numbers for entire cohort of 53 patients with inherited metabolic diseases. \*\*\*van den Broek B et al.: specific numbers not reported (in brackets numbers for entire cohort of 169 patients with inherited leukodystrophies.

#### P4

##### **Long-term outcomes of allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for adult cerebral X-linked adrenoleukodystrophy**

**Kühl, JS.\***, Suarez, F.\* , Gillett, GT., Hemmati, PG., Snowden, JA., Stadler, M., Vuong, GL., Aubourg, P., Köhler, W., Arnold, R.

Brain, Mai 2017, 953-966, 140. \*both authors equally contributed to this work

Seit dem Jahr 2000 besteht ein enger Kontakt zu dem Neurologen Dr. med. Wolfgang Köhler (seinerzeit Chefarzt der Neurologie am Klinikum Wermsdorf, heute Leitender Oberarzt am Universitätsklinikum Leipzig), der kumulativ mehr als 500 erwachsene Patienten mit X-chromosomaler ALD betreut hat. Unter den männlichen Patienten gab es einige, die auf dem Boden einer Adrenomyeloneuropathie eine akut-entzündliche, zerebrale Verlaufsform (adulte CALD) entwickelten und ähnlich rasch verstarben wie Minderjährige mit CALD. Bei einem Arbeitstreffen 2005 entwickelten wir anhand der damaligen Erfahrung mit transplantierten Kindern sowie verfügbaren Publikationen Kriterien, auf deren Basis wir Männern mit einer gesicherten CALD eine allogene HSZT als Heilversuch anbieten wollten. Primäres Ziel war zunächst, das Überleben der Patienten sicherzustellen. Frau Prof. Dr. med. Renate Arnold, seinerzeit Leitende Oberärztin des adulten HSZT-Programmes der Charité, Campus Virchow-Klinikum, war bereit, die Stammzelltransplantationen in ihrem Verantwortungsbereich durchzuführen. Von 2006 – 2012 wurden so 8 Männer behandelt. Ein weiterer von Wolfgang Köhler betreuter Patient ließ sich in Hannover transplantieren. Ein Patient wurde nach unseren Empfehlungen in Sheffield (Großbritannien) behandelt. Im Jahre 2009 erfuhren wir, dass die Gruppe um den Neuropädiater Prof. Dr. Patrick Aubourg (Paris) mit ähnlicher Rationale insgesamt 4 Erwachsene mit CALD seit 2003 transplantiert hatte. Um besser die prinzipielle Wirksamkeit der HSZT bei Männern mit CALD nachzuweisen und erste Transplantationsempfehlungen für diese Patienten aussprechen zu können, analysierten wir den Verlauf dieser 14 Patienten gemeinsam.

Der Abstrakt der Studie von Kühl et al. (109) (<https://doi.org/10.1093/brain/awx016>) lautet wie folgt:

„The adult cerebral inflammatory form of X-linked adrenoleukodystrophy is a rapidly progressive neurodegenerative disease, as devastating as childhood cerebral adrenoleukodystrophy. Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation has been demonstrated to provide long-term neurological benefits for boys with the childhood cerebral form, but results in adults are sparse and inconclusive. We analysed data from 14 adult males with adult cerebral adrenoleukodystrophy treated with allogeneic haematopoietic stem cell transplantation on a compassionate basis in four European centres. All presented with cerebral demyelinating lesions and gadolinium enhancement. Median age at diagnosis of adult cerebral adrenoleukodystrophy was 33 years (range 21–48 years). In addition to cerebral inflammation, five patients had established severe motor disability from adrenomyeloneuropathy affecting only the spinal cord and peripheral nerves (Expanded Disability Status Scale score  $\geq 6$ ). Eight patients survived (estimated survival  $57 \pm 13\%$ ) with a median follow-up of 65 months (minimum 38 months). Death was directly transplant-/infection-related ( $n = 3$ ), due to primary disease progression in advanced adult cerebral adrenoleukodystrophy ( $n = 1$ ), or secondary disease progression ( $n = 2$ ) after transient multi-organ failure or non-engraftment. Specific complications during stem cell transplantation included deterioration of motor and bladder functions ( $n = 12$ ) as well as behavioural changes ( $n = 8$ ). Arrest of progressive cerebral demyelination and prevention of severe loss of neurocognition was achieved in all eight survivors, but deterioration of motor function occurred in the majority ( $n = 5$ ). Limited motor dysfunction (Expanded Disability Status Scale score  $< 6$ ) prior to transplantation was associated with significantly improved survival [ $78 \pm 14\%$  ( $n = 9$ ) versus  $20 \pm 18\%$  ( $n = 5$ );  $P < 0.05$ ] and maintenance of ambulation (Expanded Disability Status Scale score  $< 7$ ) post-transplant ( $78\%$  versus  $0\%$ ;  $P = 0.021$ ). In contrast, bilateral involvement of the internal capsule on brain MRI was associated with poorer survival [ $20 \pm 18\%$  ( $n = 5$ ) versus  $78 \pm 14\%$  ( $n = 9$ );  $P < 0.05$ ]. This study is the first to support the feasibility, complications and potential long-term neurological benefit of allogeneic haematopoietic stem cell transplantation in adult cerebral



adrenoleukodystrophy. Further studies are warranted to attempt to improve outcomes through patient selection and optimization of transplantation protocols.”

## Long-term outcomes of allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for adult cerebral X-linked adrenoleukodystrophy

Jörn-Sven Kühl,<sup>1,\*</sup> Felipe Suarez,<sup>2,\*</sup> Godfrey T. Gillett,<sup>3</sup> Philipp G. Hemmati,<sup>4</sup> John A. Snowden,<sup>5</sup> Michael Stadler,<sup>6</sup> Giang L. Vuong,<sup>4</sup> Patrick Aubourg,<sup>7,\*</sup> Wolfgang Köhler<sup>8,\*</sup> and Renate Arnold<sup>4,\*</sup>

\*These authors contributed equally to this work.

The adult cerebral inflammatory form of X-linked adrenoleukodystrophy is a rapidly progressive neurodegenerative disease, as devastating as childhood cerebral adrenoleukodystrophy. Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation has been demonstrated to provide long-term neurological benefits for boys with the childhood cerebral form, but results in adults are sparse and inconclusive. We analysed data from 14 adult males with adult cerebral adrenoleukodystrophy treated with allogeneic haematopoietic stem cell transplantation on a compassionate basis in four European centres. All presented with cerebral demyelinating lesions and gadolinium enhancement. Median age at diagnosis of adult cerebral adrenoleukodystrophy was 33 years (range 21–48 years). In addition to cerebral inflammation, five patients had established severe motor disability from adrenomyeloneuropathy affecting only the spinal cord and peripheral nerves (Expanded Disability Status Scale score  $\geq 6$ ). Eight patients survived (estimated survival  $57 \pm 13\%$ ) with a median follow-up of 65 months (minimum 38 months). Death was directly transplant-/infection-related ( $n = 3$ ), due to primary disease progression in advanced adult cerebral adrenoleukodystrophy ( $n = 1$ ), or secondary disease progression ( $n = 2$ ) after transient multi-organ failure or non-engraftment. Specific complications during stem cell transplantation included deterioration of motor and bladder functions ( $n = 12$ ) as well as behavioural changes ( $n = 8$ ). Arrest of progressive cerebral demyelination and prevention of severe loss of neurocognition was achieved in all eight survivors, but deterioration of motor function occurred in the majority ( $n = 5$ ). Limited motor dysfunction (Expanded Disability Status Scale score  $< 6$ ) prior to transplantation was associated with significantly improved survival [ $78 \pm 14\%$  ( $n = 9$ ) versus  $20 \pm 18\%$  ( $n = 5$ );  $P < 0.05$ ] and maintenance of ambulation (Expanded Disability Status Scale score  $< 7$ ) post-transplant (78% versus 0%;  $P = 0.021$ ). In contrast, bilateral involvement of the internal capsule on brain MRI was associated with poorer survival [ $20 \pm 18\%$  ( $n = 5$ ) versus  $78 \pm 14\%$  ( $n = 9$ );  $P < 0.05$ ]. This study is the first to support the feasibility, complications and potential long-term neurological benefit of allogeneic haematopoietic stem cell transplantation in adult cerebral adrenoleukodystrophy. Further studies are warranted to attempt to improve outcomes through patient selection and optimization of transplantation protocols.

1 Department of Pediatric Oncology/Hematology/SCT, Charité Campus Virchow-Klinikum, Augustenburger Platz 1, 13353 Berlin, Germany

2 Department of Hematology, Hôpital Necker-Enfants Malades, 149 rue de Sèvres, 75015 Paris, France

3 Laboratory Medicine, STH NHS Foundation Trust, Northern General Hospital, Sheffield, S5 7AU, UK

4 Department of Hematology, Oncology and Tumorimmunology, Charité Campus Virchow-Klinikum, Augustenburger Platz 1, 13353 Berlin, Germany

5 Department of Haematology, Sheffield Teaching Hospitals NHS Foundation Trust, Hallamshire Hospital, Glossop Road, Sheffield, S10 2JF, UK

6 Department of Hematology, Hemostasis, Oncology and Stem Cell Transplantation, Hannover Medical School, Carl-Neuberg-Str. 1, 30625 Hannover, Germany

Received July 10, 2016. Revised November 17, 2016. Accepted December 18, 2016

© The Author (2017). Published by Oxford University Press on behalf of the Guarantors of Brain. All rights reserved.

For Permissions, please email: journals.permissions@oup.com

7 Department of Neuropediatrics and INSERM UMR1169, Hôpital Bicêtre, 78, avenue du Général Leclerc, 94270 Kremlin-Bicêtre, France

8 Department Neurology, Fachkrankenhaus Hubertusburg, 04779 Wermsdorf, Germany

Correspondence to: Dr Jörn-Sven Kühl,  
Charité Universitätsmedizin Berlin,  
Department Pediatric Oncology/Hematology/SCT,  
Campus Virchow-Klinikum,  
Augustenburger Platz 1, 13353 Berlin,  
Germany  
E-mail: joern\_sven.kuehl@charite.de

**Keywords:** X-linked adrenoleukodystrophy; adult cerebral form; haematopoietic stem cell transplantation; brain MRI; long-term outcome

**Abbreviations:** AACCS = adult X-ALD clinical symptom score; ACALD = adult cerebral inflammatory form of X-linked adrenoleukodystrophy; AMN = adrenomyeloneuropathy; CCALD = childhood cerebral inflammatory form of X-linked adrenoleukodystrophy; EDSS = Kurtzke Expanded Disability Status Scale; GVHD = graft-versus-host disease; HSCT = haematopoietic stem cell transplantation; X-ALD = X-linked adrenoleukodystrophy

## Introduction

X-linked adrenoleukodystrophy (X-ALD) is an inherited peroxisomal disorder caused by a defective *ABCD1* gene leading to a characteristic accumulation of saturated very long chain fatty acids in blood and tissues. The white matter in the brain, spinal cord, adrenal cortex, Leydig cells and hair follicles is typically affected (Moser, 1997; Kemp *et al.*, 2012; Wiesinger *et al.*, 2015). With an estimated combined incidence of 1:17 000 in males and females, X-ALD is one of the most common peroxisomal diseases.

Although pronounced phenotypic variation may occur within kindreds, two major forms of X-ALD can be differentiated (Moser, 1997; Kemp *et al.*, 2012; Wiesinger *et al.*, 2015). First, a chronic neuropathic form, called adrenomyeloneuropathy (AMN), involving spinal cord and to a lesser extent peripheral nerves in adult males as well as heterozygous females, and characterized by a slowly progressive spastic paraplegia with sensory ataxia. Second, a cerebral demyelinating variant with neuro-inflammation that causes white matter destruction. Cerebral demyelination results in rapid loss of neurocognitive, motor and sensory functions with vegetative state and death within a few years of onset. To date, no triggers or other factors have been identified to predict the onset of this acute inflammatory cerebral form of X-ALD, which affects about a third of all males in childhood (childhood onset cerebral ALD, CCALD). Primary isolated cerebral disease in adolescence or adulthood is uncommon (5–10%), although up to 63% of males with AMN develop secondary cerebral demyelination within 10–15 years (de Beer *et al.*, 2014). For the purposes of this study, primary and secondary cerebral demyelination with gadolinium enhancement of lesions in adulthood is termed adult cerebral ALD (ACALD). ACALD is as devastating as CCALD: patients rapidly lose cognitive and motor function leading to death.

Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is an established long-term treatment in male

children with CCALD (Aubourg *et al.*, 1990; Shapiro *et al.*, 2000; Baumann *et al.*, 2003; Peters *et al.*, 2004; Beam *et al.*, 2007; Miller *et al.*, 2011), although the mechanism of action is not fully understood (Moser and Mahmood, 2007; Schonberger *et al.*, 2007; Cartier *et al.*, 2014). Survival and neurological outcome of CCALD patients after HSCT is clearly superior compared to untreated patients (Mahmood *et al.*, 2007; Miller *et al.*, 2011). Despite the significant risks of HSCT, no other effective therapeutic option exists for CCALD. Only a few anecdotal reports of allogeneic HSCT in ACALD are available (Hitomi *et al.*, 2005; Fitzpatrick *et al.*, 2008). In contrast to male children, the cerebral form in adult males is usually associated with motor and sensory deficits in the lower limbs as well as bladder dysfunction as a consequence of AMN. The pattern of CNS demyelination in adults may also be different (Loes *et al.*, 2003; Eichler *et al.*, 2007). Moreover, bone marrow-derived cells infiltrating the brain may react differently in older patients (Barrett *et al.*, 2015). The extremely poor prognosis with a median overall survival of 2 years once ACALD enters the phase of active neuroinflammation (van Geel *et al.*, 2001; de Beer *et al.*, 2014), combined with lack of any other effective treatment, has justified the extension of allogeneic HSCT into the older age group.

We report a retrospective analysis of the feasibility, toxicity and long-term neurological outcomes of 14 adult males treated with allogeneic HSCT for ACALD in four European centres. Based on our combined experience, we propose preliminary guidelines for patient selection and treatment protocols for allogeneic HSCT in this setting.

## Patients and methods

### Participants

Fourteen adult males underwent HSCT for ACALD in four haematopoietic stem cell transplant centres in Germany,

**Table 1** Patients demographics and disease characteristics

Patient ID <sup>a</sup>	Age at ACALD (years)	EDSS-Score <sup>b</sup> (max. 10)	Addison's disease	MRI pattern <sup>c</sup> Occipital/frontal/pyramidal tracts/others	Loes-Score (max. 34)	Clinical symptoms (at age in years)
<b>I1P</b>	23	1	Yes	+ / - / - / -	2.5	Addison's disease (10), mild spastic paraplegia (24)
<b>IB</b>	45	6.5	No	** / - / ** / -	7	Sensory symptoms (44.4), spastic paraplegia (45.5), CNS symptoms: attention deficit, disinhibition (46.1). Gadolinium enhancement on first MRI
<b>I2P</b>	27	4	Yes	** / - / - / -	5.5	Addison's disease (16), mild spastic paraplegia (25)
<b>2H</b>	48	2.5	Yes	- / + / - / -	2	Addison's disease (18.6), mild spastic paraplegia (45.6)
<b>3B</b>	35	3.5	No	** / - / + / -	9.5	Intermittent bladder dysfunction (33.0), spastic paraplegia (35.2). Gadolinium enhancement on first MRI
<b>4S</b>	32	7	Yes	** / + / ** / + (temporal, thalamus)	14	Family screening (24.8), lost to follow-up; CNS symptoms: impaired hearing/vision (prosopagnosia, field defect), dysphasia, ataxia (31.9), Addison's disease (33.4). Weight loss
<b>I3P</b>	42	6	No	- / - / ** / + (centrum semiovale)	5	Family screening (35), spastic paraplegia (35)
<b>5B</b>	33	4	No	+ / (+) / - / ** (olivo-ponto-cerebellar atrophy)	9	Ataxia (25.5), spastic paraplegia (30), severe bladder dysfunction. Weight loss
<b>6B</b>	31	3	Yes	(+) / + / - / -	6	Addison's disease (17.0), sensory symptoms (25.6), CNS symptoms: mild attention deficit, mild impaired vision (field defect) (31.8)
<b>I4P</b>	21	1	No	** / - / + / -	12	CNS symptoms: learning difficulties (14.5), family screening (18.8). Cerebral demyelination without Gadolinium enhancement on first MRI
<b>7B</b>	32	4	No	** / - / + / -	11	Spastic paraplegia (31.3), CNS symptoms: seizure (32.4), attention deficit, dysarthria (32.8), impaired vision. Weight loss. Gadolinium enhancement on first MRI
<b>8B</b>	42	6.5	Yes	- / ** / ** / -	10.5	Spastic paraplegia (23.8), Addison's disease (25.8), CNS symptoms: disinhibition, attention deficit (42.4). Weight loss
<b>9B</b>	46	6.5	No	- / + / ** / + (cerebellum)	4.5	Spastic paraplegia (24.0), ataxia (44.5). Weight loss
<b>I0B</b>	25	4	No	+ / - / + / -	5	Family screening (14.4), spastic paraplegia (21.4), drug abuse (23)

<sup>a</sup>Patients in order of transplantation date. Capital letters indicate transplant centre: P = Paris, B = Berlin, H = Hannover, S = Sheffield.

<sup>b</sup>EDSS: Kurtzke Expanded Disability Symptom Score (EDSS) just prior to HSCT.

<sup>c</sup>MRI pattern: MRI lesions differentiated for involvement of parieto-occipital, frontal, pyramidal long tract fibres in internal capsule or pons, and other white matter as indicated. Degree of involvement: -, no; +, moderate; \*\*, extensive.

France and UK. Diagnosis of X-ALD was based on elevated concentrations of fasting plasma very long chain fatty acids, and additionally on mutations of the *ABCD1* gene (HGNC: 61) in nine patients. Diagnosis of ACALD required the detection of gadolinium enhancement in cerebral demyelinating lesions by brain MRI.

Patient characteristics are summarized in Table 1. Patients had detailed neurological, neurophysiological, and neuropsychological evaluation as well as MRI exams before and sequentially after HSCT. All patients were offered HSCT on an individually selected compassionate basis in accordance with the practice guidelines of the Working Party on Inborn Errors of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (Peters and Steward, 2003) with written informed consent for HSCT. The use of stem cell collections from unrelated donors and cord blood, where appropriate, were approved by the medical advisory boards of the

respective national donor search programmes for this indication.

### Allograft selection, preparative regimen, and graft-versus-host disease prophylaxis

Twelve of 14 patients received allogeneic HSCT from a matched donor after myeloablative conditioning. A matched donor was either a genotypical HLA-identical sibling ( $n = 3$ ) or a  $\geq 9/10$  HLA-matched unrelated donor ( $n = 9$ ) confirmed by high-resolution DNA typing of HLA class I (HLA A, B, Cw) and class II (HLA DRB1, DQB1) alleles. Ten of these 12 patients were transplanted with bone marrow, and two patients received granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) mobilized peripheral blood stem cells based on donor

**Table 2** Patients hematopoietic stem cell transplantation characteristics

Patient ID	Δ ACALD to HSCT, months	Conditioning	Donor	Source	Donor chimerism (Day +100: >90% donor)	Acute GVHD	Significant infection	Other significant non-neurological toxicity	Outcome
11P	6	MAC+S	MSD	BM	Yes	Grade I	Life-threatening	Haemorrhagic cystitis, thrombotic microangiopathy	Alive
1B	8	MAC+S	MSD	BM	Yes	No	–	–	Alive
12P	12	RIC+S	UD	1×CB	Not tested (aplastic)	N/A	Fatal (fungal)	–	Dead (TRM)
2H	3	MAC+S	MUD	BM	Yes	Grade I	Life-threatening	Transient multi-organ failure	Dead (Progress)
3B	14	MAC+S	MUD	BM	Yes	No	Severe	–	Alive
4S	15	MAC+S	MSD	BM	Yes	No	–	–	Dead (Progress)
13P <sup>a</sup>	9	RIC	UD	2×CB	Yes (Day +60) No (<1% donor later)	No	Life-threatening	Immune nephrotic syndrome, end-stage renal failure	Dead (Progress)
5B	9	MAC+S	MUD	BM	Yes	No	Severe	–	Alive
6B	11	MAC+S	MUD	BM	Yes	Grade I	–	–	Alive
14P	6	MAC	MUD	BM	Yes	No	–	–	Alive
7B	12	MAC+S	MUD	BM	Yes	Grade I	Severe	Pneumonia	Alive
8B	9	MAC+S	MUD	PBSC	Yes	No	Life-threatening	Pneumonia, haemorrhagic cystitis, polyserositis, multi-organ failure	Dead (TRM)
9B	5	MAC+S	MUD	PBSC	Not tested	Grade IV	Fatal	Sepsis/pneumonia, haemorrhagic cystitis, multi-organ failure	Dead (TRM)
10B	11	MAC+S	MUD	BM	No (80% donor)	Grade I	–	–	Alive

Δ ACALD to HSCT: Time interval between first detection of gadolinium enhancement in MRI (onset of ACALD) and HSCT in months.

Conditioning: MAC (+S) = myeloablative conditioning (plus serotherapy), i.e. busulfan 16 mg/kg orally (or busulfan i.v. targeted dose in Patient 14P) and cyclophosphamide (120 mg/kg over 2 days or 200 mg/kg over 4 days) (plus rabbit anti-thymoglobulin Genzyme<sup>®</sup> or Fresenius<sup>®</sup>). RIC (+S) = reduced intensity conditioning (+ serotherapy), i.e. clofarabine 200 mg/m<sup>2</sup>, busulfan 4 mg/kg orally, melphalan 140 mg/m<sup>2</sup>, and alemtuzumab in Patient 12P; cyclophosphamide 50 mg/kg, fludarabine 200 mg/m<sup>2</sup>, total body irradiation with 2 Gy in Patient 13P.

Donor: MSD = matched sibling donor; (M)UD = (matched) unrelated donor.

Source: BM = bone marrow; PBSC = peripheral blood stem cells; CB = cord blood with one (1×) or two (2×) units.

Acute GVHD: acute graft-versus-host disease with maximum grade. Significant infection: refers to infection ≥ 3 according to the National Cancer Institute (NCI) Common Terminology Criteria for Adverse Events version 3.0 (CTCAE v.3.0) criteria.

Significant non-neurological toxicity: refers to non-neurological toxicity ≥ 3 according to CTCAE v.3.0 criteria.

Outcome: TRM = transplant-related mortality, progress = ACALD progression.

<sup>a</sup>Patient 13P: initially autologous hematopoietic regeneration, since Day +30 detection of mixed donor chimerism (>90% donor chimerism at Day +60, 50% donor at Day +120, thereafter <1% donor). Toxicity due to allogeneic cord blood transplantation/non-engraftment suspected.

preference. Myeloablative conditioning consisted of busulfan and cyclophosphamide. In two patients it was not possible to identify a suitably HLA-matched donor, and they underwent unrelated cord blood transplantation after reduced-intensity conditioning. All but two patients received additional serotherapy for graft-versus-host disease (GVHD) prophylaxis: polyclonal anti-thymocyte globulin from Genzyme<sup>®</sup> ( $n = 1$ ), Fresenius<sup>®</sup> (now Neovii<sup>®</sup>;  $n = 10$ ), or the monoclonal antibody alemtuzumab (Genzyme<sup>®</sup>;  $n = 1$ ). Basic transplant characteristics of all patients are summarized in Table 2. GVHD prophylaxis and supportive care measures were delivered according to standard of care protocols at the individual centres.

### Assessment of engraftment, graft-versus-host disease, and toxicity

Engraftment with full donor chimerism was defined as >90% donor cells in total nucleated cells at Day +100 post-HSCT as detected by DNA-based techniques (i.e. short tandem repeats analysis). Diagnosis of acute GVHD was primarily based on clinical criteria; overall staging of acute and chronic GVHD

was done according to published criteria. Transplant toxicity was described according to the National Cancer Institute common terminology criteria for adverse events version 3.0 (CTCAE v.3.0) with severe toxicity recorded for adverse events grade ≥ 3.

### Data acquisition and assessment of neurological outcome

Patient-related clinical information was obtained from retrospective review of medical records in each transplant centre and from their neurologists.

Assessment tools were used to analyse changes in disease status: the Adult X-ALD Clinical Symptom score (AACS) (Köhler and Sokolowski, 1999) to quantify the overall X-ALD neurological impairment, the Kurtzke Expanded Disability Status Scale (EDSS) (Kurtzke, 1983) to assess motor dysfunction, the modified Rankin scale (Rankin, 1957) to describe disability status in daily activities, and the Loes MRI severity score (Loes *et al.*, 1994) to measure the extent of cerebral demyelination. Neurological examination covered

the following areas: motor function, sensation, bladder function, as well as overall CNS function including vision, hearing, and speech. AACCS, EDSS, and modified Rankin scale were determined for the time points pre-HSCT, worst status during first 6 months post-HSCT, and status ~24 months post-HSCT (minimum  $\geq 12$  months) for evaluable patients. In four patients (Patients 1B, 3B, 4S and 7B), no MRI scans were available before the onset of ACALD, while in three patients (Patients 12P, 8B and 9B), post-HSCT MRI could not be obtained due to poor clinical status and early death. In addition to Loes score, MRI scans were reviewed for gadolinium enhancement and patterns of demyelination (parieto-occipital  $\pm$  long tract pyramidal involvement versus all other patterns). Lesion progression was calculated from sequential MRI scans. Neuropsychometric assessment was performed pre-HSCT and, whenever possible, at various time points post-HSCT. Normalized measures of IQ were generated by appropriate tools according to the centres' preference.

Patients unable to walk without aid or rest for  $\sim 100$  m (EDSS  $\geq 6$ ), were classified as advanced AMN. Stable motor function post-HSCT was defined as increment in EDSS  $< 1$  point with preserved/maintained ambulation (EDSS  $< 7$ ). Severe deterioration in motor function was classified as increment in EDSS  $\geq 2$  points or to EDSS  $\geq 7$ . Stable neurocognition post-HSCT was defined as deterioration in IQ  $< 15$  [ $< 1$  standard deviation (SD)] or no cognitive deterioration as detected by care-givers; severe deterioration in intellectual function was classified as obvious cognitive decline or inability to test for IQ anymore. Moderate deterioration was defined as any deterioration less than severe. For the purpose of this study, events were defined in relation to ACALD progression, i.e. event-free survival was used in this study for surviving patients who retained a stable cognitive function after HSCT.

## Statistical analysis

Survival was compared by Kaplan-Meier estimates, and comparisons done by the log-rank method. Categorical variables were compared using the z-test or Fisher's exact test. Comparison of continuous variables was performed by non-parametric tests (Mann-Whitney signed rank test, the Kruskal-Wallis ANOVA with following pair-wise comparisons according to Dunn's method). Before and after analyses were performed for single time points with the Wilcoxon signed rank test or for multiple time points with the Friedman repeated measures ANOVA followed by multiple pair-wise comparisons according to the Tukey's test. Calculations were done using Sigmaplot 11.0 (Systat Inc., San José, CA, USA).

## Results

### Vital status, engraftment, disease progression-related mortality and transplant-related mortality

Fourteen patients with ACALD transplanted between 2003 and 2012 at a median age of 34 years (range 21–48 years) were included in this study. Characteristics of HSCT are summarized in Table 2.

Eight of the 14 patients were alive with a median follow-up of 65 months (range 38–116 months). The estimated overall survival probability was  $57.1 \pm 13.2\%$  (mean  $\pm$  SD) (Fig. 1A). There were no survivors after cord blood transplantation with reduced intensity conditioning ( $n = 2$ ) nor after myeloablative conditioning and peripheral blood stem cell transplantation ( $n = 2$ ), while 8 of 10 males after myeloablative conditioning and bone marrow transplantation survived (estimated survival probability  $80.0 \pm 12.6\%$  (log-rank test 11.48,  $P < 0.001$ ) (Fig. 1B). The small numbers did not permit detection of relevant transplant differences between patients with matched donors.

Full donor chimerism ( $> 90\%$  donor cells) was detected in 10 of 11 evaluable patients receiving myeloablative conditioning; one patient showed 80% donor cells (Table 2). Two males who received cord blood after reduced intensity conditioning did not permanently engraft. In the 12 patients receiving myeloablative conditioning, neutrophil recovery (peripheral neutrophil count  $\geq 500/\mu\text{l}$  for three consecutive days) occurred at a median of 19.5 days (range: 10–34 days). The incidence of severe GVHD was low: only one patient (8% of all males engrafting with donor cells) developed acute GVHD grade  $\geq$  II (grade 4 of the skin), while chronic GVHD was observed in limited form only in four patients.

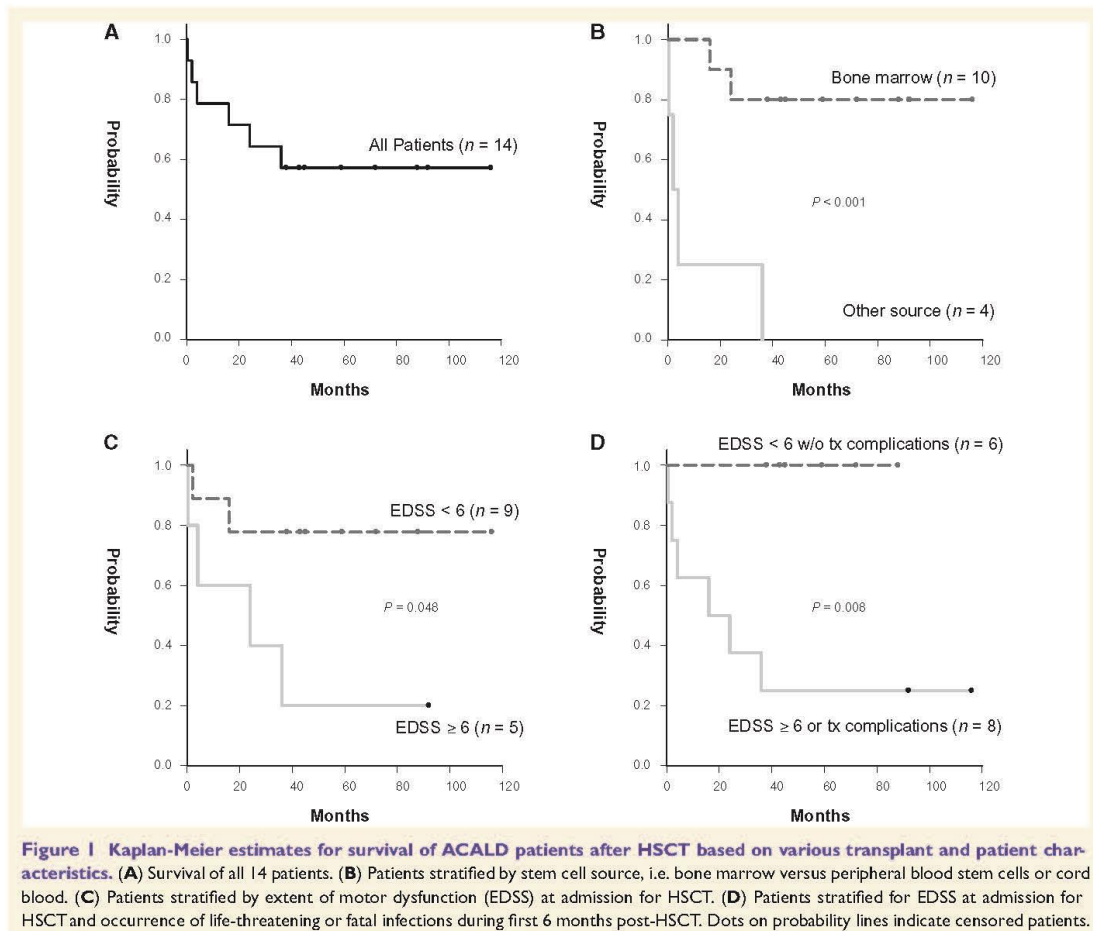
There was one death from primary disease progression without relevant HSCT complications (Patient 4S). Two further patients died from secondary disease progression after life-threatening infections with transient multi-organ failure (Patient 2H) or graft-rejection (Patient 13P). Three early deaths (21%) were directly transplant- or infection-related, either associated with non-engraftment (Patient 12P) or immobility due to advanced AMN (Patients 8B and 9B).

Survival was related to baseline motor dysfunction prior to HSCT: limited AMN (EDSS  $< 6$ ) was significantly associated with superior survival compared with advanced AMN [estimated survival probability  $77.8 \pm 13.9\%$  ( $n = 9$ ) versus  $20.0 \pm 17.9\%$  ( $n = 5$ ); log-rank test 3.91,  $P = 0.048$ ; Fig. 1C]. After excluding from the analysis the two patients who failed to engraft, the EDSS gained further prognostic significance with the estimated survival probability increasing to  $87.5 \pm 11.7\%$  ( $n = 8$ ) for EDSS  $< 6$  versus  $25.0 \pm 21.7\%$  ( $n = 4$ ) for EDSS  $\geq 6$  (log-rank test 5.16,  $P = 0.003$ ).

### Neurological status at diagnosis of ACALD and before stem cell transplantation

Disease characteristics of the 14 ACALD males before HSCT are summarized in Table 1.

Cerebral disease was first detected at a median age of 33 years (range: 21–48 years). Ten X-ALD males had been monitored in the years before the onset of ACALD. Four



patients were first diagnosed with Addison's disease during adolescence [median age at diagnosis 16.5 years (range: 10–18 years)] in the absence of AMN at that time. Two patients had been diagnosed with AMN at the age of 24 and 31 years because of spastic paraparesis. Three patients were identified by family screening with either no symptoms (Patient 10B; age 15 years), increasing learning difficulties (Patient 14P; age 18 years), or gait disturbances in combination with undiagnosed Addison's disease (Patient 8B; age 23 years). At diagnosis of X-ALD, Patient 14P presented with extensive parieto-occipital leukodystrophy and marked ventricular dilatation but without gadolinium enhancement as indication for arrested CCALD at that time. The median period between diagnosis of X-ALD and onset of ACALD was 132 months (range: 19–266 months) among these 10 patients. In contrast, four patients (Patients 1B, 3B, 4S and 7B) already had evidence of ACALD at their first MRI examination. Although Patient

4S had been originally diagnosed at the age of 24 years by family screening, he was not seen again until 8 years later at which stage he had developed visual and auditory deficits and ataxia. Patient 7B presented with seizures as first symptom. The history of AMN symptoms among these four tended to be shorter than in the other 10 patients (median duration 15.5 months versus 37 months;  $P = 0.088$ ).

All but one patient (Patient 14P) presented with AMN symptoms, which varied considerably in duration (median 24 months, range 0–266 months) and severity: while three patients had severe motor dysfunction ( $\text{EDSS} \geq 6$ ), two patients displayed no motor dysfunction, and two others showed only a mild limitation in running. There was no correlation between EDSS and age, but some linear correlation between duration of AMN symptoms and EDSS was observed ( $r = 0.735$ ;  $P = 0.003$ ). Bladder dysfunction was common and present in 12 patients, with marked

**Table 3** Disease status within 6 months after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation and MRI outcome

Patient ID	EDSS before	Early changes at months post HSCT	EDSS at 0–6	MRI outcome at months post-HSCT
11P	1	Motor dysfunction ↑↑ immediately after treatment, walks only few metres with 2 crutches at 6; bladder dysfunction ↑↑ (parallel to BK virus cystitis); behavioural disinhibition until at 12; vision ↓	7	New lesions and progression, LS 12 at 13; thereafter stable
1B	6.5	Conditioning: walks only few steps without help until at 3; fever after first serotherapy: seizure, bladder/stool incontinence (until at 1); severe depression until at 6	8	No change, minimal Gd+, LS 7(stable) at 6; new lesions (frontal), LS 10 at 18
12P	4	Motor/bladder dysfunction stable until shortly before death in aplasia at 2 (TRM); severe behavioral changes	7	Not tested
2H	2.5	Sepsis after first serotherapy: seizure, disorientation, coma, renal failure, bedridden at 1; major improvement until at 3; still walks only with two crutches; thereafter further deterioration	9.5	Many new lesions (PO, frontal, CC), LS 14 at 6; progression and atrophy, LS 20 at 12
3B	3.5	Sepsis at 0.5: bladder/stool incontinence, agitated; walks only few steps without aid at 1; thereafter motor/bladder function ↑; moderate disinhibition	6.5	Moderate lesion progression (PO), LS 11 at 16; stable, CC atrophy, LS 12 at 59
4S	7	Motor dysfunction ↑↑, hemiplegic at 3; vision ↓; complete hearing loss at 2; major confusion/psychosis at 1; severe depression at 6; no further deterioration at 3–6	8.5	Lesion progression, + atrophy, LS 15.5 at 8
13P	6	Spastic paraparesis ↑; moves from wheel-chair to bed with difficulties at 6; bladder dysfunction stable; severe behavioural changes	8.0	New lesions and progression, LS 8 at 12; minimal progression, LS 9 at 24
5B	4	Conditioning: Gait ataxia ↑, needs urine catheter; walks only few steps without aid at 1, thereafter motor function ↑; moderate depression until at 6	6.5	New lesions (PO, frontal), LS 11.5 at 7; fewer lesions detected (PO, CC, visual), LS 8.5 at 34
6B	3	Normal motor function; minimal bladder dysfunction unchanged; moderate disinhibition at 1	3	New lesions (PO), LS 8 at 6; no change at 37
14P	1	Normal neurological function preserved; severe behavioural disinhibition at 6	1	No progression, LS 12 (stable) at 14
7B	4	Sepsis at 0.5: walks only few steps with aid, bladder incontinence, attention deficit; able to walk 300m, bladder function ↑ at 6; major depression until at 6; anticonvulsive prophylaxis	7.5	Lesion progression, LS 12 at 9; fewer lesions detected, LS 10 at 24
8B	6.5	Conditioning: motor dysfunction ↑, bladder/stool incontinence; sepsis at 0.5: bedridden, disoriented, 'frontal brain syndrome', cognition ↓; continued decline until death at 4 (TRM)	9.5	Not tested
9B	6.5	Conditioning: severe dizziness, bladder/stool incontinence, dysarthria; sepsis at Day 2: cannot stand; bedridden; GVHD at day 7: severe disorientation, hallucination; death at 0.5 (TRM)	9.5	Not tested
10B	4	No change at 1; ataxia ↑ at 3 (needs bilateral aid); rarely stool incontinence at 6	6.5	Internal capsule ↑, LS 5 (stable) at 38

EDSS at 0–6 = maximum EDSS score during first 6 months post-HSCT.

MRI: LS = Loes score; PO = parieto-occipital; CC = corpus callosum.

TRM = transplant-related mortality.

impairment in two of them. Sensory dysfunction was overall mild in 13 patients and in Patient 6B was the only AMN symptom.

The median interval from detection of ACALD to HSCT was 9 months (range 3–15 months). During this period there was clinical disease progression in six patients: AMN symptoms in one, cognition in two, and both motor and cognitive functions in three patients. Patient 6B developed a visual field defect, while IQ remained stable. Patient 14P still had a strictly normal neurological exam even before HSCT, while five other patients presented with severe motor disability (EDSS ≥ 6). With regard to occupational status, five males had discontinued their

established work/profession at onset of ACALD, four of them because of progressive motor dysfunction. In the period prior to HSCT, four more patients were unable to continue working mainly due to neurocognitive decline.

The median IQ before HSCT was 99 (range 72–139). Cognitive deterioration was suspected or reported by relatives in all four patients who showed ACALD in their first brain MRI. Neuropsychological evaluation before HSCT in these patients also suggested deterioration by revealing better verbal IQs than performance IQs (data not shown). In contrast, 7 of 10 patients who were followed up long-term displayed no relevant IQ changes until admission for HSCT ( $P = 0.018$ ).



**Table 4** Long-term disease status after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation

Patient ID	EDSS before	Long-term outcome at months post-HSCT	EDSS at 24 months	Motor function >36 months	Follow-up in months
11P	1	Disinhibition resolved at 12; cognition stable (PIQ 89), but visual loss (1/10, 2/10 with major cuts in visual fields) at 18; motor function slowly improved after at 24 (walks 500m with 1 crutch at 108); severe bladder dysfunction unchanged; good QoL despite motor and visual handicap	6	↑	116
1B	6.5	Depression improved at 12; motor dysfunction (↑) at 12; transfers alone to wheelchair; moderate bladder dysfunction unchanged; cognition ↓ (IQ 75) at 20; teaches at handicapped institution; no changes after at 24	7	=	92
2H	2.5	Deterioration in all functions since at 3; unable to walk unassisted at 6; diabetes mellitus/chronic inflammation at 12; rapid further deterioration; death from secondary ACALD progression at 16	10	N/A	(16)
3B	3.5	Behavioural changes resolved at 12; cognition stable (IQ 99) at 16; walks without aid >500m at 53; limited bladder dysfunction unaltered; completely stable at 88; good QoL; retired due to spasticity	4	↑	88
4S	7	Depression improved at 12; further deterioration in motor/bladder/cognitive function after at 6; death from ACALD progression at 24	10	N/A	(24)
13P	6	Repeated septicaemias under dialysis after at 6; paraplegic, unable to transfer from bed to wheelchair alone, can speak and understands, but severe cognitive decline at 24; very poor QoL, aware of his status; death from secondary ACALD progression at 36 (also related to non-engraftment)	9	N/A	(36)
5B	4	Best clinical status at 12: able to walk 200m unassisted; requires crutch for walking at 41; severe bladder dysfunction unaltered; cognitive function stable (PIQ 108) at 12; depression ↓ ↓, but moody; still unemployed	6	↓	72
6B	3	Stable neurocognition: IQ 111 at 13; no relevant change until at 31; motor function ↑: walks >5km at 59; no bladder dysfunction at 59; bachelor completed; information processing moderately ↓; excellent QoL	3	↑	59
14P	1	Severe behavioural disinhibition resolved at 12; normal neurological status at 14; cognitive function stable (IQ 72 before); back to university (with great difficulties); good QoL	1	=	43
7B	4	Best clinical status at 12: able to walk 100m unassisted; hemiparesis; requires crutch for walking at 18; bladder incontinence at 18; cognitive function ↓ (concentration ↓); depression improved at 12; still low QoL	6	↓	45
10B	4	Moderate improvement of ataxia after at 22 (walks >1km with bilateral aid); intermittent stool incontinence unchanged; cognition: memory ↓, attention ↓, information processing ↓ at 13; formal thinking ↑ at 38 (moderate decline in neurocognition also due to drug abuse?); retired; good QoL	6	↑	38

Motor function >36 months (at last follow-up): ↑ improved; = stable; ↓ deteriorated compared to early post-HSCT period. QoL = quality of life.

### Neurological outcome early after haematopoietic stem cell transplantation

Significant neurological and/or behavioural changes were observed during the transplant procedure and early follow-up in all but one ACALD patient (Table 3).

Exacerbation of motor disability during the first 6 months post-HSCT was a characteristic feature observed in 12 of 14 patients. The median increment in EDSS was 2.8 points with considerable heterogeneity (range: 0–7 points). Only two patients who did not demonstrate obvious gait disturbances before remained unaffected in their motor function (Patients 6B and 14P). All of the other 12 patients deteriorated further; 10 (71%) of them were at least temporarily unable to walk more than a few meters even with aid (EDSS ≥ 7). With the exception of Patient 14P, bladder (and sphincter) dysfunction also became apparent or aggravated during the transplant period, especially with fever caused by serotherapy or infection. Two

patients developed seizures during the transplant procedure. Deterioration of neurocognitive function, significant hearing or vision impairment as well as severe disorientation and somnolence occurred in five patients (36%) during early post-transplant phase, four of whom subsequently died. Moderate-to-severe behavioural changes were observed in 11 males (79%), which improved markedly or disappeared in all surviving patients after 6–12 months.

Patients with limited AMN at admission for transplantation (EDSS < 6) developed significantly fewer neurological symptoms (other than progressive motor disability) compared to the ones with advanced AMN (1/9 = 11% versus 4/5 = 80%;  $z = 2.001$ ,  $P = 0.045$ ).

### Long-term neurological outcome after haematopoietic stem cell transplantation

The detailed long-term follow-up for each patient is listed in Table 4, excluding the three patients who died within the

**Table 5** Characteristics of patients with or without bilateral involvement of internal capsules on brain MRI

	<b>Group A (n = 5) With bilateral involvement of internal capsule</b>	<b>Group B (n = 9) Without bilateral involvement of internal capsule</b>	<b>P- value</b>
Progressive disease detected	5/5	6/9	ns
Rate of demyelinating lesion progression, Loes score points per year	<b>2.9</b> (1–6)	<b>0.6</b> (0–6)	0.078
Age at ACALD, years	41.9 ± 5.6*	30.7 ± 8.1	<0.05
Time period AMN to ACALD, months	90 (15–235)	27 (24–49)	ns
Loes score before HSCT	<b>6.0</b> (4.4–9.9)	<b>7.0</b> (4.9–11.4)	ns
EDSS before HSCT	<b>6.5</b> (6.4–6.6)	<b>3.5</b> (2.1–4.0)	<0.01
Probability of survival, %	20 ± 18 *	78 ± 14	<0.05

All values in bold represent median values (with 25th and 75th percentile). Significance calculated by rank sum test.

\*Age and probability of survival: Mean ± SD. Significance calculated by student t-test (age) or log-rank test (survival). ns = not significant.

first 6 months post-transplant. Three patients progressively deteriorated during the first year post-HSCT and died from ACALD progression 16 to 36 months after transplant.

Eight patients stabilized beyond 6 months post-HSCT and became long-term survivors. Two of these did not deteriorate during the transplant procedure and showed a stable motor function thereafter. Exacerbation of motor disability during the first 6 months post-transplant partly reversed in the other six patients. However, only three males (21% of all transplanted patients) could walk without assistance (EDSS < 6) 24 months after HSCT. Patient 1B was still unable to walk more than a few meters even with aid (EDSS = 7). The median gain in EDSS in these males was 1.5 points (range 0.5–5 points) compared to baseline status. After 24 months post-HSCT, motor function further improved in four patients, while two deteriorated and two remained stable. Bladder dysfunction improved partly over time, but five of the eight patients showed deterioration in comparison to the pre-HSCT status.

In contrast to motor and bladder function, basic cognitive functions were preserved in all surviving patients. Pure intellectual function remained stable in five patients (36% of all transplanted patients): IQ testing was unchanged in three patients (Patients 3B, 5B and 6B). Patient 11P had unaltered cognitive function, but was classified as ‘moderate deterioration’ due to significant visual loss. Three other surviving patients (Patients 1B, 7B and 10B) showed a moderate cognitive decline. The deterioration in information processing and learning aptitude in Patient 10B may also have been influenced by prior excessive drug abuse. Among the five patients, who had maintained their vocational status prior to HSCT, two (Patients 6B and 14P) continued as students, one (Patient 11P) was unable to resume work due to severe motor dysfunction and visual loss and two died following HSCT (Patients 2H and 9B).

IQ before HSCT was not predictive for outcome: the five patients with proven or suspected cognitive impairment before transplantation (Patients 1B, 3B, 4S, 7B and 14P) had a variable transplant course and outcome after HSCT.

## MRI results

The Loes MRI severity score varied considerably both at onset of ACALD and before HSCT. When ACALD was detected, median Loes score was 4.5 points (range 2–12 points) of maximum 34 points. The four patients with ACALD at first MRI examination (Patients 1B, 3B, 4S and 7B) tended to have a somewhat higher overall Loes score (median 7.8 points, range 4–9 points). Loes score increased during the time period between first detection of ACALD and HSCT to a median 6.5 points (range 2–14 points;  $P = 0.004$ ). Five patients remained stable, while in six patients (Patients 1B, 4S, 5B, 7B, 8B and 12P) cerebral demyelination progressed by at least 2 points. There was no correlation with progression in Loes score and that of EDSS, AACS, or in Rankin score before HSCT. For the 10 patients with MRI scans performed 6–36 months before the onset of ACALD, the median Loes score progression rate was 1.2 points per year (range 0–5.3 points). For 12 evaluable patients, the median Loes score progression rate between onset of ACALD and HSCT was 2 points per year (0–6 points).

Because of early death or poor condition, three patients did not have MRI follow-up (Table 3). Only Patient 1B showed minimal contrast enhancement 6 months post-HSCT. None of the 11 patients examined beyond 6 months after transplant showed further gadolinium enhancement of cerebral demyelinating lesions. There was no significant increase in Loes score beyond 12 months post-HSCT in comparison to Loes score before HSCT among the eight survivors [median 8 points (range 2.5–12 points) before HSCT; median 10 points (range 5–12 points) > 12 months post-HSCT].

The three patients with late death after HSCT tended to show a greater increase in Loes score (median gain 4 points; range 1.5–18 points) compared with the four experiencing moderate deterioration in cognitive function (median gain 1.5 points; range 0–9.5 points) and the four with stable cognitive function (median gain 0.8 points; range 0.5–2 points). New demyelinating lesions after

**Table 6** Changes in neurological performance scales and Loes MRI severity score before and after HSCT according to baseline status and transplant complications

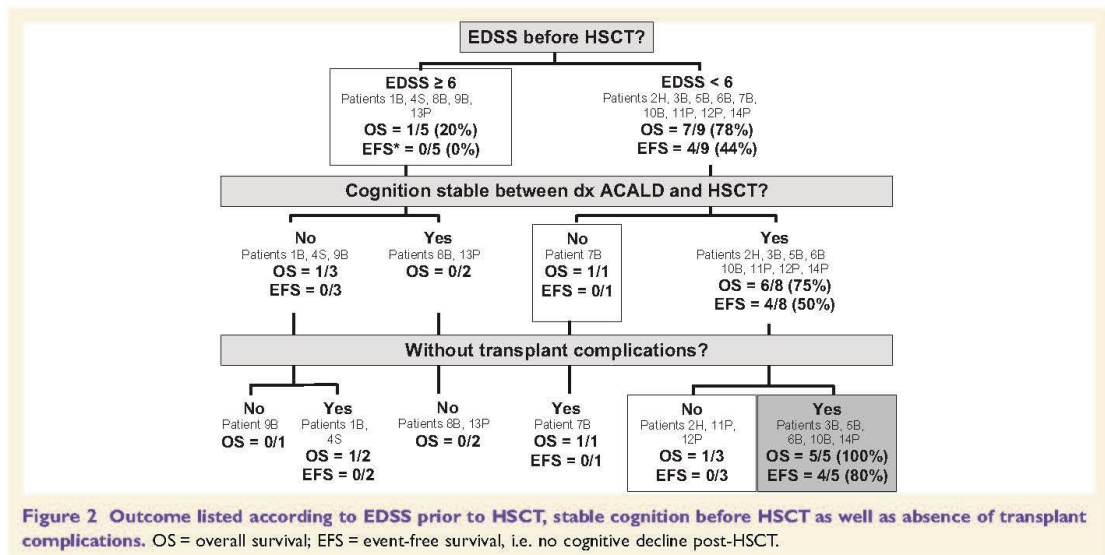
	Group I (n = 6): Baseline EDSS < 6 without transplant complications			Group II (n = 8): Baseline EDSS ≥ 6 or early transplant complications <sup>a</sup>		
	Before HSCT	Early post-HSCT, ≤ 6 months	Late post-HSCT, ~24 months	Before HSCT	Early post-HSCT, ≤ 6 months	Late post-HSCT, ~24 months
EDSS, max. 10 points	<b>3.8</b> (3.0–4.0)	<b>6.5</b> (3.0–6.5)	<b>5.0</b> (3.0–6.0)	<b>6.3</b> (3.3–6.5)	<b>8.3</b> (7.5–9.5) <sup>***</sup>	<b>9.0</b> (6.8–10.0) <sup>***</sup> (n = 5)
AACS, max. 24 points	<b>7.5</b> (7.0–10)	<b>13.0</b> (10.0–15.0) <sup>*</sup>	<b>9.0</b> (7.0–12.0)	<b>11.5</b> (5.5–12.5)	<b>18.0</b> (16.5–22.5) <sup>***</sup>	<b>21.0</b> (15.8–24.0) <sup>***</sup> (n = 5)
Modified Rankin Score, max. 6 points	<b>2.0</b> (1.0–3.0)	<b>4.0</b> (3.0–5.0) <sup>*</sup>	<b>3.5</b> (2.0–4.0)	<b>3.5</b> (1.5–4.0)	<b>5.0</b> (5.0–6.0) <sup>***</sup>	<b>6.0</b> (4.0–6.0) <sup>*</sup> (n = 5)
Loes Score, max. 34 points	<b>9.3</b> (6.0–11.0)		<b>9.3</b> (8.0–11.0)	<b>5.3</b> (3.5–8.8)		<b>11.0</b> (9.5–16.0) (n = 4)

All numbers in bold represent median values (with 25<sup>th</sup> and 75<sup>th</sup> percentile). Differences in baseline scores between group I and group II were not significant.

<sup>a</sup>Early transplant complications, i.e. at least life-threatening infections during early transplant phase or graft rejection.

<sup>\*</sup>Friedman repeated measures ANOVA on ranks with following pair wise multiple comparisons (Tukey test):  $P < 0.05$  in comparison to respective baseline status before HSCT. Missing values of the three early deceased patients for the late time point were supplemented with the respective values from the earlier time point (last value before death) except for Loes score.

<sup>\*\*</sup>Kruskal-Wallis ANOVA on ranks with following multiple comparisons versus control according to Dunn's method:  $P < 0.05$  in comparison to late post-HSCT status of group I patients.



**Figure 2** Outcome listed according to EDSS prior to HSCT, stable cognition before HSCT as well as absence of transplant complications. OS = overall survival; EFS = event-free survival, i.e. no cognitive decline post-HSCT.

HSCT were detected in only one of the four cognitively stable patients, whereas lesion progression and new lesions were seen in all three patients experiencing late mortality. However, none of these differences were significant.

Based on MRI analysis, 10 patients (71%) showed involvement of pyramidal long tract fibres, reflecting AMN (Table 1). With regard to ACALD, only 7 of 14 patients (50%) were characterized by the typical parieto-occipital pattern without additional involvement of other structures than pyramidal long tract fibres. Among the other seven patients, three patients (21%) demonstrated predominant involvement of the frontal lobe white matter, while four

patients (29%) showed demyelinating lesions in other structures (basal ganglia or cerebellum). Although two of the latter (Patients 4S and 5B) displayed additional parieto-occipital involvement, they were classified as an atypical pattern. In contrast to the Loes score itself, the MRI demyelination pattern seemed to have an impact on HSCT outcome: among the 12 males engrafting (cord blood transplantations excluded) the estimated survival of ACALD patients displaying the typical parieto-occipital pattern (with or without projection fibre involvement;  $n = 6$ ) was 100% versus  $33.3 \pm 19.2\%$  ( $n = 6$ ; log-rank test 5.57,  $P = 0.018$ ) for all other patterns.

MRI appearances were further analysed according to the study of Eichler *et al.* (2007): Patient 9B had corticospinal tract involvement without corpus callosum involvement, eight patients (Patients 1B, 3B, 4S, 7B, 8B, 10B, 13P and 14P) had corticospinal tract involvement with additional involvement of the splenium or genu, and five patients (Patients 2H, 5B, 6B, 11P and 12P) had no corticospinal tract involvement but other white matter lesions within the brain. Aside from an increased EDSS in the nine patients with corticospinal tract involvement (median EDSS 5.0 versus 2.9), there were no significant differences in age, ratio of progression, rate of lesion progression as well as outcome compared with the other patients. However, the five patients (Patients 1B, 4S, 8B, 9B and 13P) with advanced corticospinal tract axonopathy involving the two internal capsules were older at ACALD onset, had all an EDSS  $\geq 6$  before HSCT, and had a significantly poorer post-transplant survival compared with the unaffected patients with a trend for a faster rate of Loes score progression before HSCT among these patients (details summarized in Table 5). In this cohort, bilateral involvement of internal capsule identified the same subgroup of patients as the criterion EDSS  $\geq 6$  just before HSCT (Fig. 1C).

### Analysis according to baseline status and transplant complications

To analyse neurological status between patients with excellent versus poor survival further, patients were divided into two groups depending on motor disability before HSCT and early transplant complications, i.e. life-threatening to fatal infections during the first 6 months post-transplant and/or graft rejection:

Group I ( $n = 6$ ) included Patients 3B, 5B, 6B, 7B, 10B and 14P with limited AMN symptoms pre-HSCT (EDSS  $< 6$ ) and absence of severe early transplant complications.

Group II ( $n = 8$ ) included five patients (Patients 1B, 4S, 8B, 9B and 13P) with advanced AMN before HSCT (EDSS  $\geq 6$ ) and three patients (Patients 2H, 11P and 12P) with severe transplant complications.

There was a significant survival advantage for Group I patients with 100% in comparison to Group II patients with  $25.0 \pm 15.3\%$  (log-rank test 7.06;  $P = 0.008$ ; Fig. 1D). Neurological and disability status of both patient groups was quantitatively assessed before as well as early ( $< 6$  months) and late ( $\sim 24$  months) after HSCT using EDSS, AACS, modified Rankin, and Loes score (Table 6). The extent of motor dysfunction was a major criterion to define both groups, consequently the median EDSS at baseline tended to be different between both groups (though not significantly). Patients in both groups deteriorated during the early post-HSCT period in both motor and bladder function as well as cognitive function, reflected by an increase in EDSS (not significant for Group I), AACS, and modified Rankin score. Differences between both groups

became apparent during the long-term follow-up: all six patients in Group I survived and partly recovered, i.e. these patients had a 67% and 50% chance fully to preserve cognitive and motor function, respectively (Table 4), and did not demonstrate significant differences in EDSS, AACS, and modified Rankin score late post-transplant in comparison to baseline status. In contrast, the majority of Group II patients steadily deteriorated and died while the two long-term survivors remained moderately to severely impaired both in their motor and cognitive function (Patient 11P had only visual impairment with preserved cognitive functions). Accordingly, late post-HSCT status was significantly different between Group I and II patients for EDSS and AACS score. There was no significant difference in Loes score, but data were either missing ( $n = 3$ ) or only available from 8 months post-HSCT ( $n = 1$ ) for half of the Group II patients.

Of the five patients with an EDSS  $\geq 6$  before HSCT, only Patient 1B survived experiencing further cognitive decline (Fig. 2). A baseline EDSS  $< 6$  identified a group of nine patients with overall good survival. However, cognitive decline between diagnosis of ACALD and transplantation was associated with further cognitive deterioration post-transplant (Patient 7B). For the remaining eight patients, transplant complications had a major impact on outcome. In the absence of transplant complications, all five patients survived with stable cognitive function, whereas of the three who experienced life-threatening infections and/or graft rejection, only Patient 11P survived with loss of vision.

## Discussion

This retrospective study of 14 male patients with ACALD provides proof-of-principle that allogeneic HSCT can arrest inflammatory cerebral demyelination allowing survival with preserved neurocognitive function, at least in a subgroup of patients. The estimated mean survival time of the engrafted 12 patients was 81 months, in contrast to 37–41 months reported for untreated patients with cerebral demyelination (van Geel *et al.*, 2001; de Beer *et al.*, 2014). Moreover, four patients in our series (29%) maintained completely stable intellectual function, and another four developed only moderately impaired neurocognition over a median follow-up period of more than 5 years. Patients who did not progress 6 to 12 months post-transplant became long-term survivors with preserved cognitive function despite ongoing AMN symptoms. The results of HSCT therefore appear to be similar to that observed in CCALD patients (Mahmood *et al.*, 2007), if transplant is performed in patients with stable cognitive function as well as limited AMN symptoms. The relatively long interval between first detection of ACALD and HSCT of 9 months in comparison to 5.1 months in male children with CCALD (Miller *et al.*, 2011) may offer future improvement.

The small number of patients allows for only cautious comments regarding factors that may improve outcomes.

Similar to established paediatric protocols, most of our adult cohort were treated with a myeloablative busulfan- and cyclophosphamide-based regimen. Under these conditions, using bone marrow as a stem cell source appeared to be the best single predictor for survival in this series. However, this conclusion may be biased because of confounding factors related to patients treated with peripheral and cord blood stem cells.

Graft failure occurs more frequently with HLA-mismatched grafts compared to matched donors, in non-malignant versus malignant diseases, and after reduced intensity conditioning compared to myeloablation (Olsson *et al.*, 2013). According to the same study, graft failure in non-malignant disorders had no effect on survival, whereas graft rejection in our series was associated with death. In CCALD, immunoablation alone without donor engraftment does not prevent progression of disease (Nowaczyk *et al.*, 1997; Miller *et al.*, 2011). Unrelated cord blood transplantation after myeloablation may be effective in male children with CCALD lacking a matched donor (Beam *et al.*, 2007; Miller *et al.*, 2011). In these studies, however, the overall survival of patients receiving cord blood cells was inferior to other stem cell sources. Therefore, there should be caution regarding unrelated cord blood for ACALD transplant candidates lacking a matched donor, at least with a reduced-intensity conditioning regimen. A promising future alternative option for patients without a matched donor may be gene-modified autologous haematopoietic stem cell transplantation (Cartier *et al.*, 2009).

In our series, the two patients who had peripheral blood stem cell transplantation did not survive. Although the reason for failure was most likely due to AMN-related immobility with subsequent life-threatening infections, peripheral blood stem cells may also have a negative impact. Transplantation with peripheral blood stem cell in comparison to bone marrow usually results in faster engraftment, more GVHD (Holtick *et al.*, 2015) and higher mortality in non-malignant diseases (Bacigalupo *et al.*, 2015). In ACALD patients, prevention of GVHD may be of particular importance. Rapid clinical deterioration after the onset of severe acute GVHD has been observed in CCALD patients (Peters *et al.*, 2004; Miller *et al.*, 2011) and in a patient with ACALD (Fitzpatrick *et al.*, 2008). In addition, chronic GVHD was associated with temporary deterioration in motor function of an adult patient (Hitomi *et al.*, 2005). Although overall GVHD incidence in this series was low compared to other transplant patients (Socie *et al.*, 2011), the only case of significant acute GVHD was observed after peripheral blood stem cell transplantation.

In summary, we therefore recommend the use of a myeloablative, busulfan-based conditioning regimen in combination with bone marrow for transplanting ACALD patients (Box 1). However, we recognize that future research could focus on potential improvements in the conditioning regimen using other agents to reduce the toxicity of the procedure.

#### Box 1 Preliminary recommendations for HSCT in ACALD patients

- (i) Males at risk of developing ACALD should be routinely monitored by a multidisciplinary team (neurologists, metabolic physicians and transplant haematologists) in specialized centres.
- (ii) Potential family donors should be identified in advance to save time once inflammatory cerebral demyelinating lesions (i.e. with contrast enhancement) are identified on brain MRI.
- (iii) Stable neurocognitive function prior to transplant and limited AMN symptoms (EDSS < 6) are favourable outcome parameters.
- (iv) Patients with bilateral involvement of the internal capsule on brain MRI do not seem to benefit from HSCT.
- (v) Stem cell source: bone marrow from a matched related or unrelated donor ( $\geq 9/10$  HLA-match confirmed by high-resolution typing) is preferred over peripheral blood stem cells or cord blood.
- (vi) HSCT procedure: busulfan based 'full intensity' or 'myeloablative' conditioning regimens should be used, combined with serotherapy (e.g. antithymocyte globulin) to promote engraftment and limit GVHD. All efforts should be made to prevent fever due to serotherapy or infections, which may be associated with acute neurological deterioration.
- (vii) Patients should be treated in experienced transplant centres and registered with the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT), the Center for International Blood and Marrow Transplantation Research (CIBMTR) or equivalent transplant registries.

In addition to transplant-related factors, the neurological baseline status of ACALD patients also determines the outcome after allogeneic HSCT. In male children with CCALD undergoing HSCT, more deaths resulted from disease progression in advanced patients than from transplant-related problems (Peters *et al.*, 2004). Although transplant-related mortality in adult patients caused by infection or GVHD may be as high as 30% (La Nasa *et al.*, 2005; Gooley *et al.*, 2010; Peffault de Latour *et al.*, 2012; Bacigalupo *et al.*, 2015), a survival of <60% in transplanted ACALD patients suggests additional ALD-specific problems. However, an analysis of the impact of neurological status in adults is complicated by the fact that the clinical phenotype of ALD adult males is usually a combination of ACALD itself plus accompanying AMN symptoms.

In ACALD, preserved cognitive function before HSCT was considered to be important for stable long-term outcome. The four patients with progressive cognitive decline between ACALD diagnosis and HSCT, who already displayed cerebral symptoms such as impaired vision and hearing, attention deficits, or seizures before transplant, suggest a disease stage too advanced for satisfactory outcomes from HSCT. This is consistent with a previously-reported Irish adult patient with advanced ACALD (Fitzpatrick *et al.*, 2008) and male children with symptomatic CCALD. The latter display an inferior survival and a greater risk for neurological decline after HSCT than presymptomatic CCALD patients (Peters *et al.*, 2004; Miller *et al.*, 2011). In contrast, the two patients (Patients 3B and 14P) with suspected deterioration in intellectual function before the diagnosis of ACALD but subsequent

stabilization prior to HSCT displayed a stable cognitive function post-HSCT. These courses may indicate cerebral disease with less aggressive dynamics than expected. Uncertainty about the IQ before the onset of ACALD in four patients did not allow definition of a baseline IQ-value as predictor of outcome in this small cohort.

While the Loes score seems to be a valuable predictor of survival and outcome of HSCT in boys with CCALD (Peters *et al.*, 2004; Miller *et al.*, 2011; McKinney *et al.*, 2013), particularly for the typical parieto-occipital demyelination pattern (McKinney *et al.*, 2013), it does not appear to have the same utility in ACALD. In the adults of our series, 'atypical' demyelination patterns were observed in 50% of patients, far more frequent than in childhood with 20–30% (Loes *et al.*, 2003). Whether uncommon MRI patterns and changes in Loes scores immediately prior to transplant predict a poorer survival for ACALD men after HSCT has to be confirmed.

Independent from Loes score, lesion progression in adult patients with X-ALD has been highly associated with corticospinal tract involvement with a mean progression rate of 1 point every 10 months (Eichler *et al.*, 2007). In our cohort, lesion progression before HSCT was observed in an overall higher percentage of patients (71%) independent of corticospinal tract involvement, most likely because gadolinium enhancement was the prerequisite to select patients for transplantation. Contrast enhancement appears to correlate even better with rapidly progressive MRI lesions; median progression rate of Loes score in all 14 adult patients before HSCT was 2.0 points per year (range 0–6 points), as high as in children with cerebral X-ALD (Loes *et al.*, 2003) and at a greater rate than previously reported for adults with corticospinal tract involvement (Eichler *et al.*, 2007). Corticospinal tract involvement alone failed to detect a high-risk group of patients in this series. However, bilateral involvement of the internal capsule identified a subgroup of patients with higher age and EDSS at HSCT as well as a poorer prognosis after transplantation in comparison to all other patients. There was also a trend for more rapid lesion progression in this group.

Bilateral involvement of the internal capsule may therefore mark an end-stage of ascending axonopathy in adult males with AMN. Further studies are needed to determine if AMN patients with isolated involvement of internal capsules develop more severe AMN symptoms and are at high-risk to develop ACALD, and, if so, more rapidly progressive ACALD. Our study suggests, however, that ACALD patients with bilateral involvement of the internal capsule have a significantly poorer prognosis after transplant with little benefit, if any, from HSCT.

Advanced AMN, reflected by bilateral involvement of the internal capsule, appeared to be of at least similar importance for survival than extensive ACALD. Severe motor deficits of the lower limbs prior to transplant were frequently associated with immobility and life-threatening infections during the transplant procedure. Specifically, poor baseline motor function (EDSS  $\geq 6$ ) conferred higher morbidity for survivors, even long after transplantation. Whether some

patients became bedridden rapidly after transplant because of myelopathy aggravation or cognitive or psychiatric problems is almost impossible to determine. On the other hand, life-threatening infections and/or non-engraftment may result in severe secondary cerebral disease progression even in patients with limited AMN symptoms prior to transplantation.

Nearly all patients in this cohort developed behavioural changes such as disinhibition or depression at least transiently in the early post-transplant period (Rosebush *et al.*, 1999; Chee *et al.*, 2013), which were associated with an additional burden on the patients, their families, and on the transplant unit. After transplant, these behavioural changes led to fractured relationships. The short- and long-term psychosocial consequences of delivering HSCT to ACALD patients and their families require future consideration.

This study indicates for the first time the feasibility, complications and potential long-term neurological benefit of allogeneic HSCT in ACALD. The poor prognosis of patients with advanced AMN symptoms (EDSS  $\geq 6$ ) may relate to (i) immobility during the transplant procedure with increased risk of infections; (ii) predisposition to rapidly progressive ACALD due to corticospinal tract involvement within the internal capsule; and (iii) cognitive decline and/or psychiatric problems during the transplant procedure that complicates the management of patients during the transplant procedure. Based on our limited experience, we propose preliminary and tentative recommendations for HSCT in ACALD patients (Box 1). Further studies are warranted to improve outcomes through careful patient selection and optimization of HSCT protocols. Given the rarity of this disease, it is essential to have clear referral pathways to specialist centres able to assess and treat patients without delay.

## Acknowledgements

We are indebted to PD Dr M. Nagy, Berlin, for the laboratory expertise in performing DNA chimerism. We also acknowledge the input of Professor O. Bandmann into the neurological care and assessment of Patient 4S.

## Funding

We are very grateful for the support of Myelin Project, Germany, StopALD, USA, and ALD Charity, Switzerland.

## References

- Aubourg P, Blanche S, Jambaque I, Rocchiccioli F, Kalifa G, Naud-Saudreau C, et al. Reversal of early neurological and neuroradiologic manifestations of X-linked adrenoleukodystrophy by bone marrow transplantation. *N Engl J Med* 1990; 322: 1860–6.
- Bacigalupo A, Socie G, Hamladji RM, Aljurf M, Maschan A, Kyrz-Krzemien S, et al. Current outcome of HLA identical sibling versus unrelated donor transplants in severe aplastic anemia: an EBMT analysis. *Haematologica* 2015; 100: 696–702.

- Barrett JP, Costello DA, O'Sullivan J, Cowley TR, Lynch MA. Bone marrow-derived macrophages from aged rats are more responsive to inflammatory stimuli. *J Neuroinflammation* 2015; 12: 67.
- Baumann M, Korenke GC, Weddige-Diedrichs A, Wilichowski E, Hunneman DH, Wilken B, et al. Haematopoietic stem cell transplantation in 12 patients with cerebral X-linked adrenoleukodystrophy. *Eur J Pediatr* 2003; 162: 6–14.
- Beam D, Poe MD, Provenzale JM, Szabolcs P, Martin PL, Prasad V, et al. Outcomes of unrelated umbilical cord blood transplantation for X-linked adrenoleukodystrophy. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007; 13: 665–74.
- Cartier N, Hacein-Bey-Abina S, Bartholomae CC, Veres G, Schmidt M, Kutschera I, et al. Hematopoietic stem cell gene therapy with a lentiviral vector in X-linked adrenoleukodystrophy. *Science* 2009; 326: 818–23.
- Cartier N, Lewis CA, Zhang R, Rossi FM. The role of microglia in human disease: therapeutic tool or target? *Acta Neuropathol* 2014; 128: 363–80.
- Chee KY, Ong BH, Kartikasawah AL, Ngu HL. Bipolar I disorder presaging X-linked adrenoleukodystrophy. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 2013; 25: E20–2.
- de Beer M, Engelen M, van Geel BM. Frequent occurrence of cerebral demyelination in adrenomyeloneuropathy. *Neurology* 2014; 83: 2227–31.
- Eichler F, Mahmood A, Loes D, Bezman L, Lin D, Moser HW, et al. Magnetic resonance imaging detection of lesion progression in adult patients with X-linked adrenoleukodystrophy. *Arch Neurol* 2007; 64: 659–64.
- Fitzpatrick AS, Loughrey CM, Johnston P, McKee S, Spence W, Flynn P, et al. Haematopoietic stem-cell transplant for adult cerebral adrenoleukodystrophy. *Eur J Neurol* 2008; 15: e21–2.
- Gooley TA, Chien JW, Pergam SA, Hingorani S, Sorror ML, Boeckh M, et al. Reduced mortality after allogeneic hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med* 2010; 363: 2091–101.
- Hitomi T, Mezaki T, Tomimoto H, Ikeda A, Shimohama S, Okazaki T, et al. Long-term effect of bone marrow transplantation in adult-onset adrenoleukodystrophy. *Eur J Neurol* 2005; 12: 807–10.
- Holtick U, Albrecht M, Chemnitz JM, Theurich S, Shimabukuro-Vornhagen A, Skoetz N, et al. Comparison of bone marrow versus peripheral blood allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for hematological malignancies in adults - a systematic review and meta-analysis. *Crit Rev Oncol Hematol* 2015; 94: 179–88.
- Kemp S, Berger J, Aubourg P. X-linked adrenoleukodystrophy: clinical, metabolic, genetic and pathophysiological aspects. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1822: 1465–74.
- Köhler W, Sokolowski P. A new disease-specific scoring system for adult phenotypes of x-linked adrenoleukodystrophy. *J Mol Neurosci* 1999; 13: 247–52.
- Kurtzke JF. Rating neurological impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 1983; 33: 1444–52.
- La Nasa G, Caocci G, Argioli F, Giardini C, Locatelli F, Vacca A, et al. Unrelated donor stem cell transplantation in adult patients with thalassemia. *Bone Marrow Transplant* 2005; 36: 971–5.
- Loes DJ, Fatemi A, Melhem ER, Gupte N, Bezman L, Moser HW, et al. Analysis of MRI patterns aids prediction of progression in X-linked adrenoleukodystrophy. *Neurology* 2003; 61: 369–74.
- Loes DJ, Hite S, Moser H, Stillman AE, Shapiro E, Lockman L, et al. Adrenoleukodystrophy: a scoring method for brain MR observations. *AJNR Am J Neuroradiol* 1994; 15: 1761–6.
- Mahmood A, Raymond GV, Dubey P, Peters C, Moser HW. Survival analysis of haematopoietic cell transplantation for childhood cerebral X-linked adrenoleukodystrophy: a comparison study. *Lancet Neurol* 2007; 6: 687–92.
- McKinney AM, Nascene D, Miller WP, Eisengart J, Loes D, Benson M, et al. Childhood cerebral X-linked adrenoleukodystrophy: diffusion tensor imaging measurements for prediction of clinical outcome after hematopoietic stem cell transplantation. *AJNR Am J Neuroradiol* 2013; 34: 641–9.
- Miller WP, Rothman SM, Nascene D, Kivisto T, DeFor TE, Ziegler RS, et al. Outcomes after allogeneic hematopoietic cell transplantation for childhood cerebral adrenoleukodystrophy: the largest single-institution cohort report. *Blood* 2011; 118: 1971–8.
- Moser HW. Adrenoleukodystrophy: phenotype, genetics, pathogenesis and therapy. *Brain* 1997; 120 (Pt 8): 1485–508.
- Moser HW, Mahmood A. New insights about hematopoietic stem cell transplantation in adrenoleukodystrophy. *Arch Neurol* 2007; 64: 631–2.
- Nowaczyk MJ, Saunders EF, Tein I, Blaser SI, Clarke JT. Immunoablation does not delay the neurological progression of X-linked adrenoleukodystrophy. *J Pediatr* 1997; 131: 453–5.
- Olsson R, Remberger M, Schaffer M, Berggren DM, Svahn BM, Mattsson J, et al. Graft failure in the modern era of allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* 2013; 48: 537–43.
- Peffault de Latour R, Schrenzenmeier H, Bacigalupo A, Blaise D, de Souza CA, Vigouroux S, et al. Allogeneic stem cell transplantation in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Haematologica* 2012; 97: 1666–73.
- Peters C, Charnas LR, Tan Y, Ziegler RS, Shapiro EG, DeFor T, et al. Cerebral X-linked adrenoleukodystrophy: the international hematopoietic cell transplantation experience from 1982 to 1999. *Blood* 2004; 104: 881–8.
- Peters C, Steward CG. Hematopoietic cell transplantation for inherited metabolic diseases: an overview of outcomes and practice guidelines. *Bone Marrow Transplant* 2003; 31: 229–39.
- Rankin J. Cerebral vascular accidents in patients over the age of 60. II. Prognosis. *Scottish Medical Journal* 1957; 2: 200–15.
- Rosebush PI, Garside S, Levinson AJ, Mazurek MF. The neuropsychiatry of adult-onset adrenoleukodystrophy. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 1999; 11: 315–27.
- Schonberger S, Roerig P, Schneider DT, Reifemberger G, Gobel U, Gartner J. Genotype and protein expression after bone marrow transplantation for adrenoleukodystrophy. *Arch Neurol* 2007; 64: 651–7.
- Shapiro E, Krivit W, Lockman L, Jambaque I, Peters C, Cowan M, et al. Long-term effect of bone-marrow transplantation for childhood-onset cerebral X-linked adrenoleukodystrophy. *Lancet* 2000; 356: 713–18.
- Socie G, Schmoor C, Bethge WA, Ottinger HD, Stelljes M, Zander AR, et al. Chronic graft-versus-host disease: long-term results from a randomized trial on graft-versus-host disease prophylaxis with or without anti-T-cell globulin ATG-Fresenius. *Blood* 2011; 117: 6375–82.
- van Geel BM, Bezman L, Loes DJ, Moser HW, Raymond GV. Evolution of phenotypes in adult male patients with X-linked adrenoleukodystrophy. *Ann Neurol* 2001; 49: 186–94.
- Wiesinger C, Eichler FS, Berger J. The genetic landscape of X-linked adrenoleukodystrophy: inheritance, mutations, modifier genes, and diagnosis. *Appl Clin Genet* 2015; 8: 109–21.

**P5**

**Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with myeloablative conditioning for adult cerebral X-linked adrenoleukodystrophy**

Waldhüter, N., Köhler, W., Hemmati, PG., Jehn, C., Peceny, R., Vuong, GL., Arnold, R., **Kühl, JS.**  
Journal Inherited Metabolic Diseases, März 2019, 313-324, 42

Ein Problem der vorgenannten Studie war (109), dass die Patienten an 4 verschiedenen Zentren mit variierender Erfahrung und etwas unterschiedlichen Konzepten behandelt worden waren. Allein 3 Todesfälle in dieser Analyse hingen damit zusammen, dass entweder kein passender Stammzellspender zur Verfügung stand oder die Grunderkrankung nach den Berliner Kriterien bereits zu weit fortgeschritten war. Bis 2015 wurden noch einmal 7 Männer mit CALD am Campus Virchow-Klinikum transplantiert. Zusammen mit den bereits 8 vorbeschriebenen Patienten ergab sich somit eine Kohorte von 15 Männern, bei denen nach relativ einheitlichen Auswahlkriterien eine Stammzelltransplantation von einem mindestens 9/10 HLA-passenden Spender mit einer uniformen, myeloablativen Konditionierungstherapie durchgeführt worden war. Hauptfragestellungen dieser Untersuchung waren, ob sich in einem Zentrum mit größerer Erfahrung bessere Transplantationsergebnisse erzielen lassen und ob die zuvor an einer relativ heterogenen Kohorte beschriebenen Risikomerkmale weiterhin Gültigkeit haben.

Im Folgenden ist der Abstrakt der Arbeit von Waldhüter et al. (110) (<https://doi.org/10.1002/jimd.12044>) zitiert:

„The adult cerebral form of X-linked adrenoleukodystrophy (ACALD), an acute inflammatory demyelinating disease, results in a rapidly progressive neurodegeneration, typically leading to severe disability or death within a few years after onset. We have treated 15 men who had developed ACALD with allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) from matched donors after myeloablative conditioning with busulfan and cyclophosphamide. All patients engrafted and 11 survived (estimated survival  $73 \pm 11\%$ ), 8 with stable cognition and 7 of them with stable motor function (estimated event-free survival  $36 \pm 17\%$ ). Death after transplantation occurred within the first year after HSCT and was caused either primarily by infection (N = 3) or due to disease progression triggered by infection (N = 1). Patients with minor myelopathic symptoms (N = 4) or with no or mild cerebral symptoms pre-transplant (N = 7) had an excellent outcome. In contrast, no patient with major neurological symptoms associated with an extensive involvement of pyramidal tract fibres in the internal capsule (N = 5) survived without cognitive deterioration. Notably, early leukocyte recovery was associated with dismal outcome for yet unknown reasons. All 10 tested survivors showed a reduction of plasma hexacosanoic acid (C26:0) in the absence of Lorenzo's oil. Over time, the event-free survival could be improved from 2 out of 8 patients (25%) before 2013 to 5 out of 7 patients (71%) thereafter. Therefore, allogeneic HSCT appears to be a suitable treatment option for carefully selected ACALD patients when transplanted from matched donors after myeloablative, busulfan-based conditioning.“



### 3. DISKUSSION (übergreifend über alle verwendeten Arbeiten)

In den vorliegenden Arbeiten wurden 58 von 65 Patienten, die in den Jahren 1997-2017 an der Charité Campus Virchow-Klinikum wegen einer Leukodystrophie eine allogene HSZT erhielten, retrospektiv ausgewertet. Sieben weitere im Otto-Heubner-Centrum versorgte Patienten blieben unberücksichtigt: Zwei vor 2014 transplantierte Jungen mit CALD und einem HLA-*mismatch* Familienspender, vier nach 2014 behandelte Jungen mit CALD, die eine Fludarabin/Busulfan-Konditionierung erhielten und in die internationale Studie ALD-103 eingebracht wurden sowie eine 19-jährige Frau mit einer *late onset*-Form einer Globoidzell-Leukodystrophie (vgl. Abschnitt 1.3). Die in der Studie P3 analysierte Kohorte stellt die weltweit größte, monozentrische CALD-Serie bei Kindern mit einer Busulfan/Cyclophosphamid-Konditionierung, die in dem Artikel P5 beschriebenen Patienten die bisher größte monozentrische Kohorte transplantiert adulter CALD-Patienten überhaupt dar.

#### 3.1 Ergebnisse bei metachromatischer Leukodystrophie

In der vorliegenden Originalarbeit P1 (61) wird erstmalig das Langzeitergebnis einer größeren Kohorte von Kindern mit juveniler MLD analysiert. Dabei wurden Patienten nach allogener HSZT (n=24) mit dem natürlichen Verlauf von 41 nicht-transplantierten Patienten derselben Erkrankungsform verglichen. Bezogen auf das Gesamtüberleben brachte die allogene HSZT bei der initial sehr variablen und langsam progredienten Erkrankungsform keinen Überlebensvorteil, auch bedingt durch 4 Therapie-assoziierte Todesfälle. Ein Studienvergleich reflektiert den möglichen Fortschritt bei der allogenen HSZT für nicht-maligne Erkrankungen, insbesondere bei unverwandten Spendern: Während die weltweit größte monozentrische MLD-Transplantationsserie aus Minneapolis (medianes HSZT-Jahr 1998) noch eine Therapiesterblichkeit von 43 % verzeichnet (17 von 40 Patienten bei 12 % toxizitätsreduzierten Konditionierungen) (111), verstarben in unserer Studie (medianes HSZT-Jahr 2007) 17 % der Patienten an Therapiekomplicationen bei 50 % Fludarabin-basierten Konditionierungen (61). In der jüngsten monozentrischen Serie aus Utrecht (medianes HSZT-Jahr 2010) unter ausschließlicher Verwendung einer Fludarabin-basierten, toxizitätsreduzierten Konditionierung verstarb keiner der insgesamt 13 Patient therapiebedingt nach überwiegend unverwandten Nabelschnurblutpräparaten (112). In weiteren drei Kleinserien mit insgesamt 8 MLD-Patienten traten ebenfalls keine Todesfälle nach Nabelschnurbluttransplantation auf (113–115). Diese Transplantationsform ist bei der MLD jedoch nicht zwingend komplikationsärmer: Sowohl in der monozentrischen Serie der Duke Universität (einer von 27 Patienten (4 %) Fludarabin-basiert konditioniert, Transplantationszeitraum 1997-2011) als auch in der multizentrischen Analyse der EBMT betrug die Therapiesterblichkeit nach Nabelschnurbluttransplantation 22 bzw. 20 % (116,117). Dabei stellt Transplantatversagen mit 11-33% eine häufige Therapiekomplication nach Nabelschnurbluttransplantation dar (114,116,117). In unserer Serie waren die Transplantationsbedingungen so heterogen, dass kaum Aussagen zu optimalen Transplantationsbedingungen möglich waren. Einziges zu identifizierendes Therapierisiko stellten Transplantationen von nicht-passenden Stammzellspendern mit einer deutlich höheren Abstoßungsraten dar (61). Gleiches gilt für Nabelschnurtransplantationen bei Leukodystrophien (117). Im Ergebnis lässt sich feststellen, dass heutzutage unter Verwendung toxizitätsreduzierter Konditionierungstherapien bei MLD eine Transplantationssterblichkeit von <5 % in spezialisierten Zentren erreichbar ist, wobei Nabelschnurblut bei den vorwiegend jungen Patienten ähnlich gut geeignet ist wie andere Stammzellquellen. Komplikationsträchtiger sind Transplantationen von *Mismatch*-Spendern.

Erfreulicherweise verstarben im Beobachtungszeitraum unserer Analyse nur 2 von 24 transplantierten Patienten (8 %) am Erkrankungsprogress der juvenilen MLD im Gegensatz zu 11 von 41 nicht-transplantierten Patienten (27%) (61). Die Unterschiede in der Utrechter Analyse waren ähnlich: Einer von 5 Patienten (20 %) mit juveniler MLD verstarb nach Transplantation im

Unterschied zu 4 von 13 (31 %) unbehandelten Patienten (112). Eine Stabilisierung der juvenilen MLD, definiert als keine deutliche Verschlechterung der Grobmotorik oder des Intelligenzquotienten (IQ), erreichten in der eigenen Studie 55 % der transplantierten Kinder im Gegensatz zu 32 % der nicht-transplantierten, wobei ein präsymptomatischer Status bzw. eine maximal nur geringe Beeinträchtigung der Grobmotorik, ein IQ >85 vor HSZT sowie ein Erkrankungsbeginn nach dem 4. Lebensjahr prognostisch günstig waren (61). In der Utrechter Arbeit blieb allen 4 Patienten mit juveniler Erkrankung und ähnlich günstigen Ausgangsbedingungen die Gehfähigkeit nach HSZT erhalten, nur einer verschlechterte sich kognitiv (112). In der Studie der Duke Universität entwickelte ebenfalls kein Patient mit juveniler MLD und allenfalls minimalen Symptomen vor HSZT danach kognitiv eine Verschlechterung (Martin et al., 2013), in der Studie aus Minneapolis war zumindest die neurologische Verschlechterung bei den präsymptomatisch transplantierten Patienten am geringsten (111). Insofern zeigen alle zitierten Studien übereinstimmend, dass für ein neurokognitiv stabiles Langzeitergebnis bei juveniler MLD die frühzeitige Transplantation entscheidend ist. Unterstützt wird diese Feststellung durch Geschwistervergleiche: In insgesamt 9 Familien mit juveniler MLD zeigten die (früher) transplantierten Kinder einen deutlich besseren Verlauf als die später bzw. gar nicht transplantierten Indexpatienten (61,111,113,114). Im natürlichen Verlauf der juvenilen MLD vergehen im Median 27 Monate vom Auftreten der ersten grobmotorischen Auffälligkeiten bis zur Phase der rapiden Verschlechterung (59), ein Zeitraum, der zur therapeutischen Intervention genutzt werden kann. Da jedoch der Austausch der Mikroglia und somit der Eintritt des maximalen Effektes nach allogener HSZT etwa 12-18 Monate benötigt (14,15), wurden im Einzelfall auch unerwartete Verschlechterungen bei präsymptomatischen Patienten nach Transplantation beobachtet, gerade wenn der Beginn der Erkrankung offenbar bevorstand (61). So verschlechterten sich zwei Brüder nach HSZT deutlich, für die weniger als 12 Monate Zeit bis zum entsprechenden Erkrankungsalter der als Indexpatientin dienenden Schwester verblieb. Trotz des insgesamt guten Therapieeffektes bei prä- und frühsymptomatischen Patienten mit juveniler MLD auf ZNS-Funktionen (Kognition, Sprache, Grobmotorik) ist die Wirkung der allogenen HSZT auf das periphere Nervensystem jedoch begrenzt (111,113,117).

Ein positiver Therapieeffekt der allogenen HSZT lässt sich auch für erwachsene MLD-Patienten bzw. Patienten mit adulten Formen nachweisen (111,112,118), wobei die Beurteilbarkeit bei kleinen Serien mit Patienten in fortgeschrittenen Erkrankungsstadien oder durch eine ungewöhnlich hohe Rate von Therapiekomplicationen stark eingeschränkt sein kann (111,119). Elf von 12 sorgfältig ausgewählten erwachsenen Patienten (92 %) mit einem Ausgangs-IQ von >70 zeigten jedoch ein neurokognitiv stabiles Überleben (112,118).

Bei der rasch-progredienten (spät)infantilen Form dagegen sind trotz allogener HSZT Todesfälle durch Erkrankungsprogress häufig (111,112,116). In der Studie der Duke Universität entwickelten 6 von 10 Kindern (60 %) mit (spät)infantiler Erkrankungsform trotz Transplantation einen deutlichen Erkrankungsprogress, davon einer mit Todesfolge, im Unterschied zu nur 4 von 17 Patienten (24 %) mit juveniler MLD (116). In der holländischen Studie verschlechterten sich nach allogener HSZT beide Patienten (100 %) mit spät-infantiler Form, einer davon verstarb, während unter den Patienten mit juveniler MLD nur einer von 5 (20 %) einen rapiden Progress zeigte und verstarb (112).

Trotz der gut belegten metabolischen Kreuzkorrektur bei lysosomalen Stoffwechselerkrankungen mit einer direkten Freisetzung der Enzyme jenseits der Blut-Hirn-Schranke durch langlebige Spender-Makrophagen aus dem Knochenmark sind die Ergebnisse der allogenen HSZT bei den schnell progredienten Formen der MLD und des M. Krabbe insgesamt eher enttäuschend. Dies gilt insbesondere für die periphere Polyneuropathie, die trotz Transplantation häufig voranschreitet, so dass diese Patienten i.d.R. eine ausgeprägte Para- bzw. Tetraspastik entwickeln. Hier scheint die lentivirale Gentherapie mit einer supranormalen Enzymproduktion einen eindeutigen Vorteil gegenüber der allogenen HSZT zu bieten (120,121). Dabei werden *ex vivo* autologe CD34+ Stammzellen mit einem das *ARSA* Gen enthaltenden lentiviralen Vektor transfiziert („*gene adding*“) und nach einer myeloablativen Therapie dieses Produkt dem Patienten infundiert, so dass nach

Regeneration hämatopoetische Zellen mit dem intakten Transgen im Patienten nachweisbar sind. Alle 6 präsymptomatisch behandelten Patienten mit einer spät-infantilen Verlaufsform stabilisierten sich nach der Gentherapie in ihrer Grobmotorik, wobei 4 Patienten motorisch völlig unbeeinträchtigt blieben (121). Insgesamt wurden 20 Patienten im Rahmen einer offenen, einarmigen Zulassungsstudie behandelt, wobei die 14 präsymptomatisch transplantierten Kinder einen hochsignifikant besseren Erhalt ihrer Grobmotorik, die 6 frühsymptomatisch transplantierten Patienten zumindest einen deutlichen Trend zu einer Verbesserung gegenüber historischen Kontrollen zeigten.<sup>4</sup> Aufgrund dieser beeindruckenden Ergebnisse hat die europäische Zulassungsbehörde (EMA) das Genprodukt unter der Bezeichnung Libmeldy® von der Firma *Orchard Therapeutics* für Kinder mit frühen Verlaufsformen ohne klinische Symptome bzw. spät-juveniler Form mit noch erhaltener Gehfähigkeit und unbeeinträchtigter Kognition im Dezember 2020 zugelassen.<sup>5</sup>

### 3.2 Ergebnisse bei X-chromosomaler Adrenoleukodystrophie

Die Gruppe um Patrick Aubourg in Paris berichtete Anfang der 1990er Jahre erstmalig über den eine erfolgreiche Knochenmarktransplantation bei einem 8-jährigen Jungen mit CALD (101). Eine weitere Studie 10 Jahre später analysierte das Langzeitergebnis bei 12 ausgewählten Jungen mit CALD, die alle die Transplantation ohne gravierende Komplikation überlebt hatten (102). Diese Studie zeigte, dass die allogene Stammzelltransplantation prinzipiell die Erkrankung langfristig stabilisieren kann, insbesondere in frühen, präsymptomatischen Erkrankungsstadien. Die eigene Studie P2 war eine der ersten Publikationen, die in einer nicht ausgewählten Kohorte von Jungen mit CALD den Vorteil der allogenen HSZT für einige Patienten belegen konnte und gehört mittlerweile zu den am meisten zitierten CALD-Transplantationsserien (104). Gleichzeitig wurde deutlich, dass fortgeschrittene Patienten oder Patienten mit erheblichen Transplantationskomplikationen nicht von der Therapie profitieren. Die Arbeit P3 analysiert die Verläufe aller 36 Jungen mit CALD, die von 1997 – 2014 an der Charité von einem passenden Spender transplantiert wurden. Diese Studie konnte erstmalig neben dem bekannten Einfluss des Erkrankungsstadiums generell die Bedeutung von Demyelinisierungsmustern im MRT sowie von Transplantationskomplikationen auf das neurokognitive Endergebnis nachweisen (105). Die Arbeit P4 stellt die erste Studie zur Wirksamkeit der allogenen HSZT bei adulter CALD überhaupt dar (109), die Studie P5 beschreibt die Transplantationsergebnisse in der bisher weltweit größten monozentrischen Kohorte für diese Patienten (110).

#### 3.2.1 Einfluss von HSZT-Bedingungen auf das Transplantationsergebnis bei CALD

Nach verschiedenen größeren Übersichtsarbeiten beträgt das Langzeitüberleben nach allogener HSZT bei CALD sowohl für Kinder als auch Erwachsene 56-100 % (105,109,128–132,110,117,122–127). Bereits die erste große, multizentrische Studie zur allogenen HSZT bei kindlicher CALD konnte ein signifikant besseres Überleben für Patienten nachweisen, die von einem passenden Familienspender statt von einem unverwandten Spender transplantiert wurden (130). Dies wurde in den folgenden Arbeiten bestätigt (105,128). In der eigenen Untersuchung resultierte die Therapiesterblichkeit von 8 % vollständig von den unverwandten Transplantationen her (105). Das Ergebnis überrascht nicht, da es praktisch für alle nicht-malignen Transplantationsindikationen im Kindesalter gilt. HLA-idente Geschwistertransplantationen sind generell mit einem geringeren GVHD-Risiko, allerdings im Fall von Leukämien auch mit einer tendenziell höheren Rezidivrate behaftet (133). Dies stellt aber kein Problem bei nicht-malignen Erkrankungen dar. Bei HLA-identen

<sup>4</sup> [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/libmeldy-epar-product-information\\_de.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/libmeldy-epar-product-information_de.pdf) (abgerufen am 18.07.2021)

<sup>5</sup> <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/libmeldy> (abgerufen am 14.03.2021)

Geschwistertransplantation werden weniger stringente GVHD-Prophylaxen eingesetzt. Die daraus resultierend geringere Immunsuppression führt in der frühen Posttransplantationsphase entsprechend seltener zu kritischen Infektionen. Trotz dieses recht banalen Zusammenhanges ist es bemerkenswert, dass nicht nur das Gesamtüberleben, sondern auch das neurologische Ergebnis nach verwandter HLA-identer HSZT im Kindesalter trotz tendenziell fortgeschrittenerer CALD-Stadien in der eigenen Untersuchung besser ausfiel (105). Das dürfte auch darauf zurückzuführen sein, dass Verläufe mit weniger Transplantationskomplikationen mit einer höheren Wahrscheinlichkeit eines neurokognitiv stabilen Überlebens verbunden waren (s.u.). Möglicherweise wirkt die Verwendung von Knochenmark, dass bei Geschwistertransplantationen in der Pädiatrie fast ausschließlich zum Einsatz kommt, selbst dabei positiv. Erwähnt werden muss, dass in der jüngsten Transplantationsstudie ALD-103, in die insgesamt 7 eigene Patienten aus Berlin und Leipzig eingeschlossen wurden, HLA-identen Geschwistertransplantationen mit einer ungewöhnlich hohen Sterblichkeitsrate von knapp 10% verbunden waren (123). Hier steht eine detaillierte Analyse noch aus.

*Mismatch*-Transplantationen, insbesondere von haploidenten Spendern, sind zweifellos mit einem höheren Transplantationsrisiko verbunden (117,123,124,129). Ob allerdings, wie von anderen nicht-malignen Erkrankungen bekannt (17,30), bereits die Transplantation vom 9/10 HLA-passenden unverwandten Spender bei der CALD mit einem erhöhten Transplantationsrisiko assoziiert ist, kann aufgrund der eigenen begrenzten Daten nicht beantwortet werden (105,110). Über die Jahre konnte eine gewisse Senkung der Therapie-assoziierten Sterblichkeit nach unverwandter HSZT erzielt werden, letztlich auch durch Einführung neuerer toxizitätsreduzierter Konditionierungen wie z.B. Fludarabin/Busulfan (29,134). Zwei jüngere japanische Serien mit insgesamt 28 Patienten beobachten nach meist toxizitätsreduzierter Konditionierung gar keine Therapiesterblichkeit (126,127). Allerdings können auch aktuelle Studien noch eine Therapiesterblichkeit von bis zu 15 % aufweisen (123). Der Vorteil toxizitätsreduzierter Konditionierungen kommt offenbar eher bei unverwandten *Mismatch*-Transplantationen zum Tragen und spielt insbesondere bei HLA-identen Geschwistertransplantationen keine entscheidende Rolle (17,105). Eine Senkung der Therapietoxizität durch verträglichere Konditionierungsregime wird aber meist mit einer höheren Abstoßungsrate erkaufte (29,105). Insbesondere die Kombination aus toxizitätsreduzierter Konditionierung und unverwandter Nabelschnurbluttransplantation kann bei bis zu 60% der Patienten zu Transplantatversagen führen (109,117,123,126,128). Das ist deswegen kritisch, da bekannt ist, dass nach einer Transplantatabstoßung die CALD rasch voranschreiten kann (109,135). Stattdessen ist ein sicheres und zügiges myeloisches Engraftment notwendige Bedingung für eine Wiederherstellung der Blut-Hirn-Schranke und somit eine Stabilisierung der CALD nach allogener HSZT (28). Noch nicht endgültig geklärt ist die Frage, ob auch beim Menschen bestimmte Konditionierungsmodalitäten zwingend erforderlich für eine langfristige erfolgreiche Etablierung von Spendermakrophagen im ZNS sind (136). So gelingt in der Maus ein Mikrogliaaustausch nur nach Schädelbestrahlung bzw. Busulfangabe, nicht aber z.B. nach Treosulfan (137,138). Allerdings ist die Maus kein geeignetes Modellsystem, da sie keine akut-entzündliche Demyelinisierung, d.h. keine zerebrale Erkrankung, entwickelt. Ganzkörperbestrahlung verschlechtert das neurokognitive Ergebnis nach allogener HSZT bei kindlicher CALD und sollte daher eher vermieden werden (139). Aufgrund der vorgenannten Mausdaten halten wir noch am Einsatz von Busulfan fest, können in Verbindung mit Fludarabin jedoch inzwischen auch mit rund 75% der Busulfan-Standarddosis noch ein sicheres myeloisches Engraftment bei offenbar verringerter Therapietoxizität erreichen (Kühl, unveröffentlichte Daten). Das gelingt über ein therapeutisches *Drug monitoring* mit Messung der Busulfanexposition. Bemerkenswert in diesem Zusammenhang ist die Tatsache, dass nach japanischen Publikationen eine Stabilisierung der CALD sowohl bei Kindern wie auch Erwachsenen auch ohne den Einsatz von Busulfan oder Schädelbestrahlung gelingen kann (126,127). Nach den eigenen Ergebnissen ist Knochenmark die bevorzugte Stammzellquelle, zumindest in Verbindung mit einer klassischen Busulfan/Cyclophosphamid-Konditionierung (105,110). Periphere Blutstammzellen sind allgemein mit einer höheren Rate an Graft-versus-Host Erkrankungen

assoziiert (140). Allerdings scheint inzwischen der Unterschied zwischen Knochenmark und peripheren Blutstammzellen zumindest bei Erwachsenen unter Verwendung toxisitätsreduzierter Konditionierungen nicht mehr relevant zu sein (Kühl, unveröffentlichte Daten). Vermutlich wird der erwähnte Vorteil der KMT im Erwachsenenalter teilweise durch den Nachteil der tendenziell niedrigeren Zelldosis konterkariert, woraus eine längere Neutropeniedauer sowie ein höheres Infektionsrisiko resultieren kann. Publikationen zum Einsatz von Nabelschnurblut bei CALD berichten von deutlich höheren Abstoßungsraten, wenn auch häufig in Verbindung mit reduziert-intensiven Konditionierungen (109,123,126,128). Allerdings kommen solche Transplantationen, genauso wie die Verwendung von haploidenten Spendern, häufig bei weit fortgeschrittenen Patienten zum Einsatz, so dass die Aussagekraft dieser Ergebnisse etwas eingeschränkt ist (124,128).

Welchen Einfluss haben Transplantationskomplikationen auf das Langzeitergebnis bei CALD? Bereits Peters et al. berichteten, dass eine relevante akute GVHD das neurologische Endergebnis bei CALD verschlechterte (130). Wie bereits erwähnt zeigten in der eigene Serie Jungen mit CALD nach HLA-identer Geschwistertransplantation trotz tendenziell fortgeschrittenerer Erkrankungsstadien ein relativ gutes neurokognitives Ergebnis (105). Diese Studie konnte dank einheitlicher Konditionierung für die kindliche CALD erstmalig überhaupt nachweisen, dass sämtliche schwereren Therapiekomplicationen wie akute GVHD Grad >II, eine extensive chronische GVHD oder Infektionen Grad >2, zu einem neurologisch schlechteren Transplantationsergebnis führten (105). Ähnliches lässt sich auch bei Erwachsenen mit CALD beobachten. Hier war vor allem ein sehr rasches Engraftment in Verbindung mit der Busulfan/Cyclophosphamid-Konditionierung problematisch, ein Phänomen, das wir immer noch nicht gut verstehen (110). Zur Vermeidung einer GVHD hat sich inzwischen der Gebrauch von Serotherapien, d.h. lymphotoxischen Antikörperpräparaten, selbst bei HLA-identen Geschwistertransplantationen durchgesetzt. Eine gewisse Rolle scheint auch die Einführung von N-Acetylcystein zur Vermeidung von oxidativem Stress und als Neuroprotektor zu spielen (141). Umgekehrt scheint aber auch das Erkrankungsstadium einen Effekt auf Transplantationskomplikationen zu haben: In der aktuellen internationalen Transplantationsstudie ALD-103 wiesen die Kinder mit einer fortgeschrittenen CALD eine höhere Transplantationssterblichkeit auf als frühzeitig transplantierte Patienten (123). Somit ist für die Therapie der CALD wichtig, nach einer möglichst schonenden myeloablativen Konditionierung ohne GVHD von einem passenden (Knochenmark)spender zu transplantieren. Jede relevante Fieberepisode oder entzündliche Komplikation sowie ein unzureichender Spenderchimärismus können das Abklingen der ZNS-Inflammation und die Wiederherstellung der Blut-Hirn-Schranke zu verzögern. Die immunologischen Probleme wie GVHD und Transplantatabstoßung stellen das größte Problem der allogenen HSZT im Sicherheitsvergleich zur lentiviral-basierten *ex vivo* Gentherapie für CALD dar. Hier hat sich unter 51 mit der Gentherapie behandelte Patienten (Stand Oktober 2020) bisher noch kein Therapietodesfall ereignet (142,143). Die Optimierung der Transplantationsbedingungen ist durch das Fehlen eines validen Tiermodells für die CALD erschwert. So ist beispielsweise unklar, ob auch weniger neurotoxische Substanzen als Busulfan ein zerebrales Makrophagenengraftment beim Menschen zuverlässig erlauben oder ob eine immunmodulatorische Therapie vor Konditionierungsbeginn mit dem Ziel einer frühen Wiederherstellung der Blut-Hirn-Schranke für ein rasches Makrophagenengraftment möglicherweise sogar nachteilig wäre. Das Therapieprinzip des Austausches defekter Mikroglia spielt übrigens auch für andere Leukodystrophieformen wie einer durch *CSF1*-Rezeptormutation vermittelten adulten Leukenzephalopathie eine entscheidende Rolle (44,45,144).

### **3.2.2 Effekt des Ausgangsstatus auf das Transplantationsergebnis bei kindlicher CALD**

In retrospektiven Studien konnte für Jungen mit einer frühen Form der CALD ein klarer Überlebensvorteil durch die allogene HSZT im Vergleich zum natürlichen Verlauf nachgewiesen werden (131,145). In der ersten großen multizentrischen Transplantationsstudie (130) wie in der

eigenen Arbeit (105) sind allerdings mehr Jungen am Erkrankungsprogress als an Therapiekomplikationen verstorben, ein Hinweis auf einen hohen Anteil relativ weit fortgeschrittener Patienten in älteren Transplantationsserien.

Therapieergebnisse verschiedener Studien lassen sich nur sinnvoll vergleichen, wenn der Ausgangsstatus der Patienten bei Intervention anhand neurokognitiver oder neuroradiologischer Parameter vergleichbar ist. Auch gelingt eine prognostische Einschätzung vorab nur, wenn auf dieser Basis eine Stratifizierung möglich ist. Ein vom Neuropädiater Gerald Raymond entwickelter neurologischer Funktionsindex (= *neurologic function score* (NFS)) quantifiziert das Ausmaß neurologischer Defizite. Die Skala umfasst 0-25 Punkte, wobei ein höherer Punktwert ein höheres Maß an Behinderung bedeutet (71,128). Die sechs funktionell schwerwiegendsten Ausfälle im NFS, nämlich Verlust der Sprache, kortikale Blindheit, Abhängigkeit von Sondenernährung, komplette Harn- und Stuhlinkontinenz, Rollstuhlpflichtigkeit und der Verlust sämtlicher Willkürmotorik, werden inzwischen als *major functional deficits* (MFD) bezeichnet. Allerdings ist das Kriterium neurologischer Defizite bei Jungen mit CALD nach eigener Erfahrung zwar spezifisch, aber nicht sehr sensitiv. Stattdessen fallen diese Patienten initial meist durch Verhaltensauffälligkeiten und Leistungsabfall in der Schule auf, Defizite, die vom NFS nicht erfasst werden. Neuropsychologische Tests sind zur Beschreibung der Situation nicht immer hilfreich, da 1) retrospektiv nicht einsetzbar, 2) im Alltag aufwendig und 3) diese häufig nicht den Unterschied zwischen mangelnder Motivation und echten Teilleistungsstörungen erkennen lassen. Schulschwierigkeiten lassen sich dagegen recht einfach und auch retrospektiv mit Hilfe des *ALD disability related scores* (ALD-DRS)<sup>6</sup> quantifizieren, der somit auch einen robusten Bewertungsmaßstab für neurokognitiv stabiles Überleben darstellt (130). Eine weitere Möglichkeit, das Erkrankungsstadium der CALD zu beschreiben und damit zu stratifizieren, stellt der *Loes Score* dar. Dieser Demyelinisierungsindex quantifiziert die Anzahl befallener ZNS-Strukturen (146,147)<sup>7</sup>. Bei dem im Kindesalter häufigen, typischen parietooccipitalen Demyelinisierungsmuster, ausgehend vom *Splenium corporis callosum*, sind relativ früh auch die Seh- und Hörbahnen betroffen, wodurch diese Jungen einen Loes Score von 9-10 Punkten aufweisen können, ohne neurologisch symptomatisch zu sein. Bereits Peters et al. konnten zeigen, dass kindliche CALD Patienten mit einem NFS  $\leq 1$  und einem Loes Score  $< 9$  ein signifikant besseres Überleben nach allogener HSZT aufwiesen als fortgeschrittenere Patienten (130). Dieses Ergebnis wurde dann monozentrisch in Minneapolis weitgehend bestätigt, wobei nun der *cut-off* bei einem Loes Score  $\geq 10$  Punkte bzw. einem NFS  $\geq 1$  Defizit lag (128). Somit gelten Patienten mit kindlicher CALD bei einem Loes Score  $< 9-10$  Punkten und einem NFS  $\leq 1$  als frühe Erkrankungsstadien vor Transplantation, die anderen als fortgeschritten.

Ein insgesamt besseres Überleben für Patienten in frühen Erkrankungsstadien im Vergleich zu Kindern mit mehreren neurologischen Defiziten und/oder einem Loes Score  $> 9-10$  Punkten zeigten neben den eigenen Studien (104,105) auch andere größere Serien (122,131,148). Dies gilt insbesondere auch für die überwiegend prospektive Transplantationsstudie ALD-103 (123). In der eigenen ersten Serie entwickelten beide Patienten mit einem Loes Score  $> 12$  einen rapiden Progress und verstarben innerhalb weniger Monate nach Transplantation (104). Yalçın et al., die auch noch sehr fortgeschrittenen Jungen mit CALD eine Transplantation anboten, berichten von hohen Sterblichkeitsraten bei Patienten, die bereits eine *major functional disability* entwickelt hatten (148).

Das Gesamtüberleben reflektiert bei der CALD allerdings nur unzureichend den Therapieerfolg (105,130,131,142). Das Konservieren eines CALD-Patienten in einem vegetativen Zustand unter weitgehendem Verlust der Neurokognition kann nicht Ziel einer allogenen HSZT mit all ihren Risiken sein. Daher wurde in neueren Studien als ein Endpunkt das Überleben ohne *major functional*

---

<sup>6</sup> ALD-DRS mit den Stufen 0 bis 4, wobei Stufe 0 keinerlei Probleme bzw. Verhaltensauffälligkeiten, Stufe 4 den Verlust der Wahrnehmung mit Notwendigkeit der ständigen Betreuung bedeutet.

<sup>7</sup> Der Loes Score beschreibt das Demyelinisierungsmaß auf einer Punkteskala von 0 – 34. Die frühest mögliche erkennbare CALD hätte einen Loes Score von 0,5 für einen einseitigen Demyelinisierungsherd. Trotz erfolgreicher Therapie ohne neu entstandene Demyelinisierungsherde kann der Loes Score nach HSZT durch Ausbildung von Glianarben ansteigen, da für solche Atrophien auch Punkte vergeben werden.

*deficits* gewählt. Das sogenannte MFD-freie Überleben beschreibt recht spezifisch den Behandlungserfolg ohne Entwicklung einer deutlichen CALD Progression (105,123,131,142,148). In diesen Studien zeigten Jungen in frühen CALD-Stadien mit einem NFS-Punktwert von maximal 1 bzw. einem Loes Score  $\leq 9$  ein MFD-freies Überleben von 76-88 % (104,105,122,123,131). Sowohl in der eigenen Arbeit (105) wie auch in der Studie ALD-103 (123) entwickelte keiner der in einem frühen Erkrankungsstadium transplantierten Jungen eine MFD. Die Arbeit von Peters et al. (130) gibt lediglich den NFS-Wert an: In dieser Studie überlebten 58 % der Patienten mit einem Ausgangs-NFS von  $\leq 1$  Punkt die Transplantation ohne Entwicklung zusätzlicher neurologischer Defizite. Ein ebenso deutlicher Risikofaktor für einen späteren neurologischen Progress wie ein NFS  $> 0$  waren in der Folgestudie aus Minneapolis ein Gesamt-IQ und ein Handlungs-IQ von jeweils  $< 80$  vor Transplantation (128). In derselben Studie wiesen die Patienten mit einem Loes Score  $\geq 10$  einen signifikant niedrigeren Gesamt-IQ und Handlungs-IQ vor HSZT auf. Die vorherige, multizentrische Studie aus Minneapolis hatte bereits einen signifikant niedrigeren Ausgangs-Handlungs-IQ in der Gruppe der nach Transplantation verstorbenen Patienten im Vergleich zu den Langzeitüberlebenden nachgewiesen (130).

Nur wenige Studien haben die Kognition nach allogener HSZT untersucht. In drei Studien haben sich alle CALD Patienten verschlechtert, die nicht ein altersentsprechendes Entwicklungsalter bzw. einen IQ  $> 80$  vor Nabelschnurbluttransplantation zeigten (117,122,126). Von den CALD Patienten mit weitgehend altersentsprechender Kognition bei Nabelschnurbluttransplantation entwickelten sich 46-70 % weitgehend normal (117,122,126). Nur zwei Studien nutzten die ALD *disability* Skala zur Bewertung eines weitgehend kognitiv stabilen Überlebens (105,130). Das bedeutet, dass zuvor symptomlose Patienten nach allogener HSZT weiterhin keine Hilfen im Alltag benötigen. In der Studie von Peters et al. hatten von 94 Patienten 10 langzeitüberlebende (11 %) nach allogener HSZT keine Probleme und benötigten in der Schule keinerlei Unterstützung (130). Acht dieser Patienten hatten vor der Transplantation einen ALD-DRS = 0, jeweils einer = 1 bzw. = 2; von den zuvor symptomlosen Kindern blieben es 62 % nach der Transplantation. In der eigenen Untersuchung überlebten insgesamt 13 Patienten mit einem ALD-DRS = 0 (36 %), entsprechend 65 % der zuvor präsymptomatischen Patienten (105). Unter den 16 transplantierten Kindern, die mit maximal kleinen Schwierigkeiten oder Verhaltensauffälligkeiten (ALD-DRS = 1) therapiert wurden, blieb nur ein Junge (6 %) auf diesem Niveau stabil. Von 21 Jungen in der internationalen Analyse mit einem maximal geringen Hilfsbedarf (ALD-DRS = 1) vor Transplantation verschlechterten sich 66 % (130). Das bedeutet, dass nur symptomlose, präsymptomatische Kinder mit CALD oder Patienten mit allenfalls geringem Unterstützungsbedarf realistische Chancen haben, nach allogener HSZT neurokognitiv stabil zu bleiben (105,130). Dies unterstreicht die Notwendigkeit einer frühzeitigen Diagnose der CALD im präsymptomatischen Stadium. Solche Patienten lassen sich ohne ein etabliertes Neugeborenencreening letztlich nur über ein Familienscreening anhand von Indexpatienten identifizieren. Der Anteil dieser Patientengruppe betrug in den beiden Studien aus Minneapolis lediglich ein knappes Drittel (128,130), in der eigenen Studie immerhin gut 50 %, was auch das bessere neurokognitive Ergebnis erklärt (105). Nach der eigenen Erfahrung bleibt jedoch das Familienscreening hinter den Möglichkeiten zurück, weil gerade in Deutschland Erberkrankungen in der Familie eher tabuisiert werden. Der relativ hohe Anteil frühzeitig transplantierten Patienten in der eigenen Studie erklärt sich vor allem über die Tatsache, dass zahlreichen Familien mit weit fortgeschrittenen CALD-Kindern von der Transplantation abgeraten wurde. Eine weitere Möglichkeit, eine ALD-Anlage vor dem Auftreten einer symptomatischen CALD zu erkennen, besteht in der rechtzeitigen Diagnose einer primären Nebennierenrindeninsuffizienz im Rahmen der ALD (149). Allerdings ließen nach den eigenen Daten bei Diagnose eines M. Addison bereits 88 % der Patienten im ersten Kopf-MRT eine CALD erkennen, so dass die Nebennierenrindeninsuffizienz eher kein Frühsymptom ist (105). Da in über 90 % der eigenen Patienten zumindest ein stimuliertes adrenocorticotropes Hormon als Zeichen der latenten Nebennierenrindeninsuffizienz nachweisbar war (Kühl, unveröffentlichte Daten), kann man vielmehr vermuten, dass ein M. Addison die Entwicklung zur CALD begünstigt. Konsequenterweise lassen sich ALD-Merkmalsträger daher nur über ein Neugeborenencreening identifizieren, dass in den

U.S.A. seit September 2015 allgemein empfohlen und seither auch in einigen Bundesstaaten eingeführt wurde (150,151). Spätestens ab dem 3. Lebensjahr sollen dann diese Jungen mittels regelmäßig durchgeführter kranialer MRTs auf den Beginn einer zerebralen Verlaufsform hin untersucht werden (152). So gelingt eine Diagnose viele Monate vor Auftreten neurologischer bzw. neuropsychologischer Symptome. Die Daten aus aktuellen Studien zeigen, dass in den U.S.A. CALD Patienten inzwischen deutlich früher behandelt werden können (142).

Das Ausmaß an ZNS-Demyelinisierung dient der Prognoseabschätzung vor Transplantation. In der Arbeit von Miller et al. (128) wiesen Patienten mit einem Loes Score <10 vor Transplantation signifikant häufiger keine neurologischen Defizite auf und hatten einen höheren Handlungs-IQ. In der eigenen Kohorte wurden in der Subgruppe der präsymptomatischen Patienten signifikant niedrigere Loes Werte bestimmt als unter den symptomatischen (105). Es wurde bereits erwähnt, dass üblicherweise ein Loes Score <9-10 Punkte frühe Erkrankungsstadien mit besserem MFD-freien Überleben charakterisiert (105,123,128,130,131). Dies gilt jedoch nur für die klassische parietooccipitale Form mit primärem Befall des Splenium corporis callosum (128). Bis zu einem Drittel aller kindlichen CALD Patienten weist dagegen nicht dieses typische Demyelinisierungsmuster auf (77). Wir konnten zeigen, dass beim selteneren frontalen Befall mit Demyelinisierung des Genu corporis callosum ein Loes Score von nur 4 als Grenzwert sinnvoll ist (105). Noch seltener sind Demyelinisierungsmuster mit cerebellärem oder Stammganglien-Befall (77). Ein solches Muster wiesen 4 Patienten in der eigenen Kohorte auf, von denen 3 einen Loes Score <9 hatten. Dennoch verstarben alle 4 Patienten am Erkrankungsprogress ohne von der allogenen HSZT zu profitieren (105). Schließlich wurden insgesamt 18 Patienten mit einem ungünstigen MRT-Befall charakterisiert, die sich alle neurologisch verschlechterten und von denen 61 % eine *major functional disability* entwickelten (105). Unter den Patienten mit ungünstigem MRT-Befall ließ sich bei 28 % eine vollständige Demyelinisierung der Projektionsfasern auf Höhe der *Capsula interna* nachweisen, im Unterschied zu keinem Patienten mit günstiger MRT-Demyelinisierung. Interessant ist, dass auch Kato et al. von einem neurokognitiv ungewöhnlich schlechtem Ergebnis bei Kindern mit *Capsula interna*-Befall berichten (126). In ähnlicher Weise ist eine vollständige Demyelinisierung auf Höhe der *Capsula interna* prognostisch ungünstig bei Erwachsenen mit CALD (109,110,153). Allerdings muss die vorgeschlagene Einteilung in günstige und ungünstige MRT-Muster prospektiv an größeren Kohorten sowie mit neueren toxizitätsreduzierten Konditionierungen validiert werden. Außerdem heißt es nicht, dass Kinder mit klassischem parietooccipitalen Befall und einem Loes Score <9 Punkte nicht auch erhebliche Teilleistungsstörungen trotz erfolgreicher allogener HSZT entwickeln können. Die Gruppe in Minneapolis belegte, dass bereits bei einem Loes Score >4 Punkte im Langzeitverlauf bei rund 50 % der Patienten erhebliche Defizite in fast allen Domänen der neuropsychologischen Testung nachweisbar waren, was wiederum die Notwendigkeit einer frühestmöglichen Therapie betont (139). Die gleiche Arbeitsgruppe konnte auch zeigen, dass zusätzlich sowohl die Intensität wie auch das Volumen der Kontrastmittelaufnahme von ZNS-Strukturen vor allogener HSZT bei Kindern prognostisch relevant sind (154,155).

### **3.2.3 Effekt des Ausgangsstatus auf das Transplantationsergebnis bei adulter CALD**

Ähnlich wie bei Minderjährigen scheinen auch erwachsene Männer mit CALD nach allogener HSZT eine bessere Überlebenschancen zu haben als Patienten ohne Transplantation (127). Bei Erwachsenen stellt sich die Situation der CALD vor Transplantation jedoch generell etwas anders dar: Während bei Jungen mit CALD neurologische Symptome ein spätes Symptom sind (vgl. 3.2.2 - Ausführung über NFS), weisen Erwachsene mit CALD praktisch immer Symptome einer Adrenomyeloneuropathie auf. Außerdem sind bei adulter CALD andere Demyelinisierungsmuster als das parietooccipitale relativ häufiger (146,153). Bei Erwachsenen korrelieren motorische Defizite häufig nicht mit dem Stadium der zerebralen Erkrankung. Allerdings stellen



fortgeschrittene motorische Defizite wie z.B. die Unfähigkeit, ohne Hilfsmittel zu gehen (EDSS=6)<sup>8</sup>, oder der Verlust der Blasenkontrolle auch ein Risiko für eine allogene HSZT dar. Solche Patienten können eher eine Pneumonie oder Urosepsis entwickeln. So war es nicht ganz unerwartet, dass Patienten mit einem Ausgangs-EDSS  $\geq 6$  in der ersten adulten CALD-Studie ein deutlich schlechteres Überleben zeigten (109). Außerdem ist der EDSS prognostisch für die spätere Lebensqualität von Bedeutung, da sich AMN-Symptome nach allogener HSZT generell nicht verbessern. Mit einer optimierten Supportivtherapie und offenbar auch mit Toxizitätsreduzierter Konditionierung verliert ein fortgeschrittener EDSS als Risikomerkmale für das Gesamtüberleben an Bedeutung (110,127). Die Analyse von Waldüter et al. zeigte, dass letztlich eine weitgehend intakte Neurokognition vor HSZT, ähnlich wie im Kindesalter, entscheidend für ein kognitiv stabiles Überleben ist (110). Außerdem ist der Loes Score bei Erwachsenen aufgrund von AMN-bedingter Axonopathie mit nachfolgender ZNS-„unspezifischer“ Demyelinisierung weniger aussagekräftig, so dass Befallsmuster hier offenbar eine größere Rolle spielen (142). Nach der eigenen Erfahrung scheinen die Muster, die Cerebellum und ausgeprägt die Projektionsfasern in der Capsula interna betreffen, als Risikomerkmale von Bedeutung zu sein (110). Interessant sind die Ergebnisse einer aktuellen japanischen Fallserie (127): Ohne einen einzigen Todesfall nach Stammzelltransplantation konnten die Autoren auch kein Risikomerkmale für einen (neurologisch) ungünstigen Verlauf identifizieren. Im Gegensatz zur Charité-Serie berichten sie jedoch bei 3 von 6 frühsymptomatischen Patienten mit einem Ausgangs-EDSS  $< 4$  sowohl von einer kognitiven wie auch einer motorischen Verschlechterung nach HSZT.

Insgesamt kommt es somit sowohl bei Kindern wie bei Erwachsenen darauf an, für ein gutes neurokognitives Ergebnis frühzeitig zu transplantieren. „*Time is brain*“, wie Florian Eichler (Boston, U.S.A.; persönliche Mitteilung) salopp formuliert. Aufgrund des relativ hohen Transplantationsrisikos und der Tatsache, dass mindestens 60 % aller Merkmalsträger keine CALD als Minderjährige entwickeln, wird aktuell die allogene HSZT nur bei Patienten mit einer Kontrastmittel-aufnehmenden ZNS-Demyelinisierung als indiziert angesehen. Ausnahme stellen lediglich Jungen bis etwa zum 15. Lebensjahr dar, die einen eindeutigen Demyelinisierungsfortschritt auch in Abwesenheit von Kontrastmittelaufnahme zeigen und bei denen das Vorliegen einer AMN ausgeschlossen werden kann. Nicht gut geklärt ist die Frage, ob sich durch eine allogene HSZT im Kindesalter eine spätere AMN vermeiden lässt. Eine erste Publikation beschreibt konsistente AMN-Entwicklungen in Patienten nach allogener HSZT (156). Allerdings lässt sich eine reine AMN klinisch nicht sicher von einer sekundären Axonopathie nach CALD abgrenzen, die aufgrund der Wallerschen Degeneration demyelinisierter Axone entsteht und eine AMN-ähnliche Symptomatik aufweist. Mittlerweile ist recht gut belegt, dass durch die allogene HSZT eine partielle Korrektur der Fettstoffwechselstörung stattfindet (74,101,110). Dies könnte die Entwicklung einer späteren AMN zumindest verzögern.

### 3.2.4 Allogene HSZT im Vergleich zur Gentherapie bei CALD

In den letzten 20 Jahren wurde parallel zur allogenen HSZT eine lentivirale Gentherapie für die CALD entwickelt. Dabei werden nach Mobilisation und Apherese autologe hämatopoetische Stammzellen (CD34+ Vorläufer-Zellen) eines CALD Patienten *ex vivo* mit einem lentiviralen Vektor, der ein intaktes *ABCD1*-Gen enthält, transfiziert (142). Da die so korrigierten Patientenzellen keinen Selektionsvorteil haben, müssen die Patienten vor Gabe des Genprodukts ähnlich wie bei der allogenen HSZT eine myeloablative Konditionierungstherapie erhalten. Im Unterschied zur allogenen HSZT ist bei den autologen Zellen aber nicht mit einer GVHD zu rechnen und

---

<sup>8</sup> EDSS – Skala zur Einschätzung des funktionellen Grades der Behinderung, besonders gebräuchlich bei multipler Sklerose. Punktwert zwischen 0 (symptomlos) und 10 (Tod). Ab einem EDSS =4 steht die motorische Dysfunktion im Vordergrund, bei einem EDSS = 6 benötigt der Patient eine Gehhilfe zur Fortbewegung.

entsprechend auch keine Prophylaxe erforderlich. Die Therapie wurde ursprünglich von der Pariser Gruppe um Patrick Aubourg, die auch das ABCD1-Gen klonierte, entwickelt und als *proof of concept*-Studie bei insgesamt 4 Kindern mit CALD eingesetzt (12). Die Firma *bluebird bio* (Cambridge, U.S.A.) modifizierte den Vektor und erhielt am 21.07.2021 eine EMA-Zulassung für Elivaldogene autotemcel (SKYSONA®) zum Einsatz bei Kindern mit früher CALD <sup>9</sup>. In der inzwischen geschlossenen, erfolgreichen Zulassungsstudie ALD-102 erreichten 27 von 30 auswertbaren Patienten nach 24 Monaten den primären Endpunkt (Stand Oktober 2020)<sup>10</sup>. Das günstige Sicherheitsprofil von Elivaldogene autotemcel mit keinem Therapietodesfall bei 51 behandelten Patienten (Stand Oktober 2020) wurde bereits erwähnt. Auch die Effektivität mit einem MFD-freien Überleben von 90 % erscheint im Vergleich zu den im Abschnitt 3.2.2 zitierten Transplantationsstudien hoch. Allerdings wurden in der Studie ALD-102 ein sehr hoher Anteil präsymptomatischer Patienten behandelt: Der mediane NFS in dieser Kohorte betrug 0 Punkte, der mediane Loes Score 2 Punkte, jeweils zu Therapiebeginn. Wählt man aus der eigenen Arbeit ähnliche Patienten aus, wäre das MFD-freie Überleben ident. Unter den 32 Patienten, die in der Studie ALD-102 behandelt wurden, waren nur 4 mit einem Basis-Loes Score von 4-9 Punkten, von denen dann ein Patient am Erkrankungsprogress im Verlauf verstarb. Daher sind Aussagen zur Effektivität der Gentherapie bei nicht mehr ganz frühen kindlichen CALD Patienten noch nicht möglich. Interessant ist ein Vergleich zum Ausmaß der Gen"korrektur": In der eigenen Kinderserie wiesen 89 % der evaluierbaren Patienten einen Spenderchimärismus von >95 % auf; kein Patient hatte einen Spenderchimärismus <70 % (105). Bei den erwachsenen Patienten waren die Zahlen ähnlich (110). Patienten mit einem Spenderchimärismus ≤ 80% entwickelten signifikant mehr neurologische Defizite als Patienten mit einem höheren Spenderanteil (128). In der Gentherapiestudie ALD-102 exprimierten im Median knapp 10 % der Zellen normales ALD-Protein bei der jeweils letzten Patientenvorstellung (nach Fußnote 7). Zunächst hatten die Pariser Daten dafür gesprochen, dass ein solches Transfektionsniveau ausreicht, die Blut-Hirn-Schranke wiederherzustellen und langfristig ein Rezidiv der CALD zu verhindern (12). Eine aktuelle Folge-Studie zu den Pariser Patienten berichtet jedoch, dass sich bei einem Langzeit-Transfektionslevel von 5-10 % 3 der 4 Patienten nach spätestens 60 Monaten relevant kognitiv, 2 der 4 Kinder zusätzlich innerhalb von 10 Jahren erheblich neurologisch verschlechtert hätten (157). Da davon auszugehen ist, dass auch die Korrektur der VLCFA vom Chimärismus- bzw. Transfektionsniveau abhängt (12,110,142) und der Grad der Fettstoffwechselkorrektur möglicherweise die Entstehung einer späteren AMN beeinflusst, könnten langfristig die Effektivität von Elivaldogene autotemcel im Vergleich zur allogenen HSZT durchaus unterschiedlich sein.

---

<sup>9</sup> <https://www.businesswire.com/news/home/20210721005331/en/> (abgerufen am 24.07.2021)

<sup>10</sup> Zitiert nach vorgenannter Pressemitteilung (Fußnote 6). Daten präsentiert unter: Kühl JS et al. ElivaldogeneAutotemcel(eli-cel, Lenti-D) Gene Therapy for the Treatment of Cerebral Adrenoleukodystrophy: Updated Results from the Phase 2/3 ALD-102 Study and First Report on Safety Outcomes from the Phase 3 ALD-104 Study. Oral presentation (Presidential Symposium). 47th Annual Meeting of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT 2021); Virtual Congress, 14 – 17 March 2021

#### 4. ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK

Die hier vorgelegten Arbeiten belegen gut den therapeutischen Effekt der allogenen HSZT bei bestimmten Leukodystrophien im Kindes- wie im Erwachsenenalter.

Obwohl die metabolische Kreuzkorrektur bei den lysosomalen Speichererkrankungen gut belegt ist, profitieren bei diesen Leukodystrophien nur die milderen *late onset* Verlaufsformen von einer allogenen HSZT. Das sind bei der MLD die juvenile und adult Form, die rechtzeitig in einem präsymptomatischen Zustand bzw. mit erhaltener Kognition transplantiert werden sollten. Bei der schnell progredienten, infantilen Form ist die allogene HSZT wenig effektiv. Insbesondere die periphere Neuropathie mit Entwicklung einer Spastik kann kaum verhindert werden. Ähnliches gilt für die Globoidzell-Leukodystrophie (Morbus Krabbe). Die nicht unerhebliche Therapieletalität sowie Therapiemorbidity der allogenen HSZT besonders bei den *quoad vitam* weniger bedrohlichen späten Erkrankungsformen ist auch zu berücksichtigen. Wenn die künftigen klinischen Ergebnisse der MLD-Gentherapie die überzeugenden Daten der Zulassungsstudien bestätigen, kann hier die Gentherapie mit einer supranormalen Enzymproduktion zumindest bei der MLD auch die Prognose der infantilen Form verbessern. Insofern ist zu vermuten, dass bei einem überlegenen Sicherheitsprofil mittelfristig die Gentherapie für die MLD und möglicherweise auch für den M. Krabbe die Therapie der Wahl sein kann und die allogene HSZT und noch mehr die Enzymersatztherapie keine bedeutsame Rolle mehr spielen werden.

Bei der zerebralen ALD ist der Austausch proinflammatorischer Mikroglia durch gesunde langlebige Spendermakrophagen entscheidend. Hier ist die allogene HSZT effektiver als bei den lysosomalen Erkrankungen des ZNS. Dies gilt zumindest für die frühe Phase der zerebralen Erkrankung mit wenig Demyelinisierung und erhaltener Neurokognition, da einmal eingetretene neurologische Funktionsverluste nicht reversibel sind. Die Therapie ist bei erwachsenen Männern mit zerebralem Verlauf prinzipiell genauso effektiv wie bei Kindern mit der Einschränkung, dass bei Erwachsenen die AMN zusätzliche Funktionseinschränkungen und Therapiekomplikationen mit sich bringt. Ein vollständiges *Engraftment* und die Vermeidung inflammatorischer Komplikationen wie relevante GVHD sind neben dem Ausgangsstatus entscheidend für ein gutes neurologisches Langzeitergebnis. Insofern ist gerade für fortgeschrittene Patienten eine „milde“ Konditionierung mit einer hohen potentiellen Abstoßungsrate keine geeignete Lösung. Die gerade zugelassene lentivirale Gentherapie (Elivaldogene autotemcel) stellt angesichts eines guten Sicherheitsprofils zumindest für Kinder mit früher CALD und ohne passenden Stammzellspender eine wertvolle zusätzliche Therapieoption da. Sicher wird die Gentherapie auch für den Einsatz bei der adulten CALD erprobt werden. Da die Effektivität der Gentherapie bei weniger frühen Erkrankungsstadien noch nicht belegt ist, ist davon auszugehen, dass für die CALD die allogene HSZT auf absehbare Zeit bedeutsam bleiben wird. In welchem Ausmaß die allogene HSZT durch die Gentherapie irgendwann verdrängt wird, hängt letztlich davon ab, wie gut einerseits die Gentherapie langfristig wirksam, verfügbar und finanzierbar ist und andererseits, inwieweit sich bei der allogenen HSZT lebensbedrohliche Immunreaktionen durch eine Optimierung der Konditionierung und des Stammzellproduktes vermeiden lassen. Von einer möglichen Verbesserung der Konditionierung durch Einsatz stammzelltoxischer Antikörper (158,159) könnten sowohl allogene HSZT wie lentivirale Gentherapie profitieren. Inwieweit ein möglichst vollständiger Spenderchimerismus nach allogener HSZT mit (Teil)Korrektur der Fettstoffwechselstörung eine spätere AMN-Entwicklung günstig beeinflusst und somit Vorteile gegenüber der Gentherapie bringt, muss noch untersucht werden. Davon könnte auch abhängen, ob zukünftig eine allogene HSZT mit sehr geringer Toxizität bei ALD auch „prophylaktisch“ eingesetzt wird. Dann würde man der akut-entzündlichen Demyelinisierung nicht immer quasi hinterherlaufen. Das Therapieprinzip des Austausches defekter Mikroglia spielt übrigens auch bei anderen Leukodystrophieformen eine Rolle, was die Indikation für die allogene HSZT noch erweitern könnte.

Für den Erfolg sowohl der allogenen HSZT wie der Gentherapie bei CALD und anderen Leukodystrophien ist aber die frühestmögliche Diagnose entscheidend, der sich aktuell nur über MRT-Verlaufskontrollen bestimmen lässt. Eine Diagnosestellung über Symptome, insbesondere

Verhaltensauffälligkeiten, kommt praktisch immer zu spät. Diese unbefriedigende Situation ist nur durch die Einführung eines Neugeborenen Screenings zu lösen. Dies gilt für die lysosomalen Leukodystrophien in ähnlicher Weise. Bei der MLD hilft eine relativ gute Genotyp-Phänotyp-Korrelation die Erkrankungsschwere einzuschätzen. Bei der ALD erschweren die fehlende Genotyp-Phänotyp-Korrelation sowie die Tatsache, dass rund zwei Drittel aller Jungen in der ersten Lebensdekade keine zerebrale Form entwickeln, die Akzeptanz eines Screenings in Deutschland. Hier können eine bessere Würdigung der Addison-bedingten Morbidität sowie leicht bestimmbare Biomarker für den Beginn eines zerebralen Verlaufs anstelle von MRT-Kontrollen in Siedierung zu einer Meinungsänderung führen. Ohne eine zuverlässige Frühdiagnose wird der Anteil relativ weit fortgeschrittener Patienten vor Therapiebeginn hoch bleiben. Solange bleibt dem Transplantationsexperten häufig nur die herausfordernde wie undankbare Aufgabe zu beurteilen, ob eine zelluläre Therapie überhaupt noch angemessen ist.

Relativierend muss man noch einmal betonen, dass die in dieser Schrift zusammengestellten Ergebnisse möglicherweise nur für die beschriebenen Transplantationsbedingungen gelten, auch wenn die hier zusammengestellten Daten im internationalen Vergleich große Fallserien darstellen. Prospektive Studien mit toxizitätsreduzierten Protokollen werden zeigen müssen, inwieweit sich die Ergebnisse bestätigen lassen. Dennoch bilden die bisher gefundenen Resultate eine wertvolle Grundlage für heutige Therapieentscheidungen.

## 5. LITERATURVERZEICHNIS

1. Appelbaum FR, Forman SJ, Negrin RS, Blume KG, editors. *Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation* [Internet]. Oxford, UK: Wiley-Blackwell; 2009. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/9781444303537>
2. Weissman IL, Shizuru JA. The origins of the identification and isolation of hematopoietic stem cells, and their capability to induce donor-specific transplantation tolerance and treat autoimmune diseases. *Blood*. 2008;112(9):3543–53.
3. Wynn RF, Boelens JJ, Saif MA. HSCT for inborn errors of metabolism and neurodegenerative disorders. In: Munker R, Hildebrandt G, Lazarus H, Atkinson K, editors. *The BMT Data Book*. Cambridge: Cambridge University Press; 2013. p. 192–204.
4. Jacobsohn DA. Optimal management of chronic graft-versus-host disease in children. *Br J Haematol*. 2010;150(3):278–92.
5. Gatza E, Reddy P, Choi SW. Prevention and Treatment of Acute Graft-versus-Host Disease in Children, Adolescents, and Young Adults. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2020;26(5):e101–12.
6. Murray J, Stringer J, Hutt D. Graft-Versus-Host Disease (GvHD). In: *The European Blood and Marrow Transplantation Textbook for Nurses*. Cham: Springer International Publishing; 2018. p. 221–51.
7. Peters C. Hematopoietic Cell Transplantation for Storage Diseases. In: *Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation*. Oxford, UK: Wiley-Blackwell; 2009. p. 1136–62.
8. Fratantoni JC, Hall CW, Neufeld EF. The defect in Hurler and Hunter syndromes, II. Deficiency of specific factors involved in mucopolysaccharide degradation. *Proc Natl Acad Sci*. 1969;64(1):360–6.
9. Chao HHJ, Waheed A, Pohlmann R, Hille A, Von Figura K. Mannose 6-phosphate receptor dependent secretion of lysosomal enzymes. *EMBO J*. 1990;9(11):3507–13.
10. Hobbs J. Reversal of clinical features of Hurler's disease and biochemical improvement after treatment by bone-marrow transplantation. *Lancet*. 1981;318(8249):709–12.
11. Krivit W. Microglia: The effector cell for reconstitution of the central nervous system following bone marrow transplantation for lysosomal and peroxisomal storage diseases. *Cell Transplant*. 1995;4(4):385–92.
12. Cartier N, Hacein-Bey-Abina S, Bartholomae CC, Veres G, Schmidt M, Kutschera I, et al. Hematopoietic stem cell gene therapy with a lentiviral vector in X-linked adrenoleukodystrophy. *Science (80- )*. 2009;326(5954):818–23.
13. Asheuer M, Pflumio F, Benhamida S, Dubart-Kupperschmitt A, Fouquet F, Imai Y, et al. Human CD34+ cells differentiate into microglia and express recombinant therapeutic protein. *Proc Natl Acad Sci*. 2004;101(10):3557–62.
14. Biffi A, Lucchini G, Rovelli A, Sessa M. Metachromatic leukodystrophy: an overview of current and prospective treatments. *Bone Marrow Transplant*. 2008;42(S2):S2–6.
15. Cartier N, Aubourg P. Hematopoietic stem cell transplantation and hematopoietic stem cell gene therapy in X-linked adrenoleukodystrophy. *Brain Pathol*. 2010;20(4):857–62.
16. Gungör T, Teira P, Slatter M, Stussi G, Stepensky P, Moshous D, et al. Reduced-intensity conditioning and HLA-matched haemopoietic stem-cell transplantation in patients with chronic granulomatous disease: a prospective multicentre study. *Lancet*. 2014;383(9915):436–48.
17. Dedieu C, Albert MH, Mahlaoui N, Hauck F, Hedrich C, Baumann U, et al. Outcome of chronic granulomatous disease - Conventional treatment vs stem cell transplantation. *Atanaskovic-Markovic M, editor. Pediatr Allergy Immunol*. 2021;32(3):576–85.
18. Ringden O, Remberger M, Gustafsson B, Moretti G, Mattsson J, Winiarski J, et al. The outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for inherited diseases is influenced by HLA match, year of transplantation, and immunized female donor. *Transplantation*. 2019;103(6):1247–52.
19. Ben-Barouch S, Cohen O, Vidal L, Avivi I, Ram R. Busulfan fludarabine vs busulfan cyclophosphamide as a preparative regimen before allogeneic hematopoietic cell transplantation: Systematic review and meta-analysis. *Bone Marrow Transplant*. 2016;51(2):232–40.
20. Gooley TA, Chien JW, Pergam SA, Hingorani S, Sorrow ML, Boeckh M, et al. Reduced Mortality after Allogeneic Hematopoietic-Cell Transplantation. *N Engl J Med*. 2010;363(22):2091–101.
21. Lee J-H, Joo Y-D, Kim H, Ryoo HM, Kim MK, Lee G-W, et al. Randomized Trial of Myeloablative Conditioning Regimens: Busulfan Plus Cyclophosphamide Versus Busulfan Plus Fludarabine. *J Clin Oncol*. 2013;31(6):701–9.

22. Styczyński J, Tridello G, Koster L, Iacobelli S, van Biezen A, van der Werf S, et al. Death after hematopoietic stem cell transplantation: changes over calendar year time, infections and associated factors. *Bone Marrow Transplant.* 2020;55(1):126–36.
23. Penack O, Peczynski C, Mohty M, Yakoub-Agha I, Styczynski J, Montoto S, et al. How much has allogeneic stem cell transplant–related mortality improved since the 1980s? A retrospective analysis from the EBMT. *Blood Adv.* 2020;4(24):6283–90.
24. Wadhwa A, Chen Y, Holmqvist A, Wu J, Ness E, Parman M, et al. Late Mortality after Allogeneic Blood or Marrow Transplantation for Inborn Errors of Metabolism: A Report from the Blood or Marrow Transplant Survivor Study-2 (BMTSS-2). *Biol Blood Marrow Transplant.* 2019;25(2):328–34.
25. Mohty B, Mohty M. Long-term complications and side effects after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: an update. *Blood Cancer J.* 2011;1(4):e16–e16.
26. Cuvelier GDE, Li A, Drissler S, Kariminia A, Abdossamadi S, Rozmus J, et al. Age Related Differences in the Biology of Chronic Graft-Versus-Host Disease After Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Front Immunol.* 2020;11:571884.  
<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2020.571884/full>
27. Socié G, Schmoor C, Bethge WA, Ottinger HD, Stelljes M, Zander AR, et al. Chronic graft-versus-host disease: Long-term results from a randomized trial on graft-versus-host disease prophylaxis with or without anti-T-cell globulin ATG-Fresenius. *Blood.* 2011;117(23):6375–82.
28. Orchard PJ, Nascene DR, Miller WP, Gupta A, Kenney-Jung D, Lund TC. Successful donor engraftment and repair of the blood-brain barrier in cerebral adrenoleukodystrophy. *Blood.* 2019;133(12):1378–81.
29. Gupta A, Downey M, Shanley R, Jennissen C, Miller WP, Lund TC, et al. Reduced-Toxicity (BuFlu) Conditioning Is Better Tolerated but Has a Higher Second Transplantation Rate Compared to Myeloablative Conditioning (BuCy) in Children with Inherited Metabolic Disorders. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2020;26(3):486–92.
30. Olsson R, Remberger M, Schaffer M, Berggren DM, Svahn BM, Mattsson J, et al. Graft failure in the modern era of allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant.* 2013;48(4):537–43.
31. Sedláček P, Petterson T, Robin M, Sivaprakasam P, Vainorius E, Brundage T, et al. Incidence of Adenovirus Infection in Hematopoietic Stem Cell Transplantation Recipients: Findings from the AdVance Study. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2019;25(4):810–8.
32. Rowe RG, Guo D, Lee M, Margossian S, London WB, Lehmann L. Cytomegalovirus Infection in Pediatric Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Risk Factors for Primary Infection and Cases of Recurrent and Late Infection at a Single Center. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2016;22(7):1275–83.
33. Fisher BT, Robinson PD, Lehrnbecher T, Steinbach WJ, Zaoutis TE, Phillips B, et al. Risk Factors for Invasive Fungal Disease in Pediatric Cancer and Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Systematic Review. *J Pediatric Infect Dis Soc.* 2018;7(3):191–8.
34. Orchard PJ, Tolar J. Transplant Outcomes in Leukodystrophies. *Semin Hematol.* 2010;47(1):70–8.
35. Köhler W, Curiel J, Vanderver A. Adulthood leukodystrophies. *Nat Rev Neurol.* 2018;14(2):94–105.
36. Parikh S, Bernard G, Leventer RJ, van der Knaap MS, van Hove J, Pizzino A, et al. A clinical approach to the diagnosis of patients with leukodystrophies and genetic leukoencephalopathies. *Mol Genet Metab.* 2015;114(4):501–15.
37. van der Knaap MS, Bugiani M. Leukodystrophies: a proposed classification system based on pathological changes and pathogenetic mechanisms. *Acta Neuropathol.* 2017;134(3):351–82.
38. Poletti V, Biffi A. Gene-Based Approaches to Inherited Neurometabolic Diseases. *Hum Gene Ther.* 2019;30(10):1222–35.
39. Bosch ME, Kielian T. Neuroinflammatory paradigms in lysosomal storage diseases. *Front Neurosci.* 2015;9(OCT):1–11.
40. Musolino PL, Gong Y, Snyder JMT, Jimenez S, Lok J, Lo EH, et al. Brain endothelial dysfunction in cerebral adrenoleukodystrophy. *Brain.* 2015;138(11):3206–20.
41. Eichler F, Van Haren K. Immune Response in Leukodystrophies. *Pediatr Neurol.* 2007;37(4):235–44.
42. Eichler FS, Ren JQ, Cossoy M, Rietsch AM, Nagpal S, Moser AB, et al. Is microglial apoptosis an early pathogenic change in cerebral X-linked adrenoleukodystrophy? *Ann Neurol.* 2008;63(6):729–42.
43. Cartier N, Lewis CA, Zhang R, Rossi FMV. The role of microglia in human disease: Therapeutic tool or target? *Acta Neuropathol.* 2014;128(3):363–80.
44. Eichler FS, Li J, Guo Y, Caruso PA, Bjonnes AC, Pan J, et al. CSF1R mosaicism in a family with hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids. *Brain.* 2016;139(6):1666–72.
45. Mochel F, Delorme C, Czernecki V, Froger J, Cormier F, Ellie E, et al. Haematopoietic stem cell transplantation in CSF1R-related adult-onset leukoencephalopathy with axonal spheroids and

- pigmented glia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2019;90(12):1375–6.
46. Wenger DA, Rafi MA, Luzi P. Molecular genetics of Krabbe disease (globoid cell leukodystrophy): Diagnostic and clinical implications. *Hum Mutat*. 1997;10(4):268–79.
  47. Gieselmann V, Krägeloh-Mann I. Metachromatic Leukodystrophy – An Update. *Neuropediatrics*. 2010;41(01):1–6.
  48. Engelen M, Kemp S, De Visser M, Van Geel BM, Wanders RJA, Aubourg P, et al. X-linked adrenoleukodystrophy (X-ALD): Clinical presentation and guidelines for diagnosis, follow-up and management. *Orphanet J Rare Dis*. 2012;7(1):1–14.
  49. Turk BR, Theda C, Fatemi A, Moser AB. X-linked adrenoleukodystrophy: Pathology, pathophysiology, diagnostic testing, newborn screening and therapies. *Int J Dev Neurosci*. 2020;80(1):52–72.
  50. Huffnagel IC, Laheji FK, Aziz-Bose R, Tritos NA, Marino R, Linthorst GE, et al. The natural history of adrenal insufficiency in X-linked adrenoleukodystrophy: An international collaboration. *J Clin Endocrinol Metab*. 2019;104(1):118–26.
  51. Escolar ML, Poe MD, Provenzale JM, Richards KC, Allison J, Wood S, et al. Transplantation of Umbilical-Cord Blood in Babies with Infantile Krabbe’s Disease. *N Engl J Med*. 2005;352(20):2069–81.
  52. Langan TJ, Barcykowski AL, Dare J, Pannullo EC, Muscarella L, Carter RL. Evidence for improved survival in postsymptomatic stem cell-transplanted patients with Krabbe’s disease. *J Neurosci Res*. 2016;94(11):1189–94.
  53. Krivit W, Shapiro EG, Peters C, Wagner JE, Cornu G, Kurtzberg J, et al. Hematopoietic Stem-Cell Transplantation in Globoid-Cell Leukodystrophy. *N Engl J Med*. 1998;338(16):1119–27.
  54. Gieselmann V. Metachromatic leukodystrophy: Genetics, pathogenesis and therapeutic options. *Acta Paediatr Int J Paediatr*. 2008;97(SUPPL. 457):15–21.
  55. Holtschmidt H, Sandhoff K, Kwon HY, Harzer K, Nakano T, Suzuki K. Sulfatide activator protein. Alternative splicing that generates three mRNAs and a newly found mutation responsible for a clinical disease. *J Biol Chem*. 1991;266(12):7556–60.
  56. Rosenberg JB, Kaminsky SM, Aubourg P, Crystal RG, Sondhi D. Gene therapy for metachromatic leukodystrophy. *J Neurosci Res*. 2016;94(11):1169–79.
  57. Heinisch U, Zlotogora J, Kafert S, Gieselmann V. Multiple mutations are responsible for the high frequency of metachromatic leukodystrophy in a small geographic area. *Am J Hum Genet*. 1995;56(1):51–7.
  58. Kehrer C, Blumenstock G, Gieselmann V, Krägeloh-Mann I. The natural course of gross motor deterioration in metachromatic leukodystrophy. *Dev Med Child Neurol*. 2011;53(9):850–5.
  59. Kehrer C, Groeschel S, Kustermann-Kuhn B, Bürger F, Köhler W, Kohlschütter A, et al. Language and cognition in children with metachromatic leukodystrophy: Onset and natural course in a nationwide cohort. *Orphanet J Rare Dis*. 2014;9(1):1–9.
  60. Rauschka H, Colsch B, Baumann N, Wevers R, Schmidbauer M, Krammer M, et al. Late-onset metachromatic leukodystrophy: Genotype strongly influences phenotype. *Neurology*. 2006;67(5):859–63.
  61. Groeschel S, Kühl JS, Bley AE, Kehrer C, Weschke B, Döring M, et al. Long-Term outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with juvenile metachromatic leukodystrophy compared with nontransplanted control patients. *JAMA Neurol*. 2016;73(9):1133–40.
  62. Bezman L, Moser AB, Raymond G V., Rinaldo P, Watkins PA, Smith KD, et al. Adrenoleukodystrophy: Incidence, new mutation rate, and results of extended family screening. *Ann Neurol*. 2001;49(4):512–7.
  63. Moser H. Adrenoleukodystrophy: phenotype, genetics, pathogenesis and therapy. *Brain*. 1997;120(8):1485–508.
  64. Berger J, Forss-Petter S, Eichler FS. Pathophysiology of X-linked adrenoleukodystrophy. *Biochimie*. 2014;98:135–42.
  65. Wiesinger C, Eichler FS, Berger J. The genetic landscape of X-linked adrenoleukodystrophy: Inheritance, mutations, modifier genes, and diagnosis. *Appl Clin Genet*. 2015;8:109–21.
  66. Haberfeld W, Spieler F. Zur diffusen Hirn-Rückenmarksklerose im Kindesalter. *Dtsch Z Nervenheilkd*. 1910;40(5–6):436–63.
  67. Schilder P. Zur Frage der Encephalitis periaxialis diffusa (sogenannte diffuse Sklerose). *Zeitschrift für die gesamte Neurol und Psychiatr*. 1913;15(1):359–76.
  68. Budka H, Sluga E, Heiss W-D. Spastic paraplegia associated with addison’s disease: Adult variant of adreno-leukodystrophy. *J Neurol*. 1976;213(3):237–50.

69. Griffin JW, Goren E, Schaumburg H, Engel WK, Loriaux L. Adrenomyeloneuropathy: A probable variant of adrenoleukodystrophy I. Clinical and endocrinologic aspects. *Neurology*. 1977;27(12):1107–1107.
70. Moser HW, Moser AB, Frayer KK, Chen W, Schulman JD, O'Neill BP, et al. Adrenoleukodystrophy: Increased plasma content of saturated very long chain fatty acids. *Neurology*. 1981;31(10):1241–1241.
71. Moser HW, Loes DJ, Melhem ER, Raymond G V., Bezman L, Cox CS, et al. X-linked adrenoleukodystrophy: Overview and prognosis as a function of age and brain magnetic resonance imaging abnormality. A study involving 372 patients. *Neuropediatrics*. 2000;31(5):227–39.
72. Kemp S, Berger J, Aubourg P. X-linked adrenoleukodystrophy: Clinical, metabolic, genetic and pathophysiological aspects. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis*. 2012;1822(9):1465–74.
73. Engelen M, Kemp S, Poll-The BT. X-linked adrenoleukodystrophy: Pathogenesis and treatment. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2014;14(10):1–8.
74. Moser H. Adrenoleukodystrophy: phenotype, genetics, pathogenesis and therapy. *Brain*. 1997;120(8):1485–508.
75. Van Geel BM, Bezman L, Loes DJ, Moser HW, Raymond G V. Evolution of phenotypes in adult male patients with X-linked adrenoleukodystrophy. *Ann Neurol*. 2001;49(2):186–94.
76. Melhem ER, Loes DJ, Georgiades CS, Raymond G V., Moser HW. X-linked adrenoleukodystrophy: The role of contrast-enhanced MR imaging in predicting disease progression. *Am J Neuroradiol*. 2000;21(5):839–44.
77. Loes DJ, Fatemi A, Melhem ER, Gupte N, Bezman L, Moser HW, et al. Analysis of MRI patterns aids prediction of progression in X-linked adrenoleukodystrophy. *Neurology*. 2003;61(3):369–74.
78. De Beer M, Engelen M, Van Geel BM. Frequent occurrence of cerebral demyelination in adrenomyeloneuropathy. *Neurology*. 2014;83(24):2227–31.
79. Suzuki Y, Takemoto Y, Shimozawa N, Imanaka T, Kato S, Furuya H, et al. Natural history of X-linked adrenoleukodystrophy in Japan. *Brain Dev*. 2005;27(5):353–7.
80. Chen X, Chen Z, Huang D, Liu X, Gui Q, Yu S. Adult cerebral adrenoleukodystrophy and Addison's disease in a female carrier. *Gene*. 2014;544(2):248–51.
81. Hershkovitz E, Narkis G, Shorer Z, Moser AB, Watkins PA, Moser HW, et al. Cerebral X-linked adrenoleukodystrophy in a girl with Xq27-Ter deletion. *Ann Neurol*. 2002;52(2):234–7.
82. Engelen M, Barbier M, Dijkstra IME, Schür R, de Bie RMA, Verhamme C, et al. X-linked adrenoleukodystrophy in women: a cross-sectional cohort study. *Brain*. 2014;137(3):693–706.
83. Maier EM, Kammerer S, Muntau AC, Wichers M, Braun A, Roscher AA. Symptoms in carriers of adrenoleukodystrophy relate to skewed X inactivation. *Ann Neurol*. 2002;52(5):683–8.
84. Balky A, Gosalakal J. Intra familial phenotypical variations in adrenoleukodystrophy. *Neurol India*. 2010;58(1):109.
85. Pereira F dos S, Matte U, Habekost CT, Castilhos RM de, El Husny AS, Lourenço CM, et al. Mutations, Clinical Findings and Survival Estimates in South American Patients with X-Linked Adrenoleukodystrophy. Toft M, editor. *PLoS One*. 2012;7(3):e34195.
86. Semmler A, Bao X, Cao G, Köhler W, Weller M, Aubourg P, et al. Genetic variants of methionine metabolism and X-ALD phenotype generation: Results of a new study sample. *J Neurol*. 2009;256(8):1277–80.
87. van Engen CE, Ofman R, Dijkstra IME, van Goethem TJ, Verheij E, Varin J, et al. CYP4F2 affects phenotypic outcome in adrenoleukodystrophy by modulating the clearance of very long-chain fatty acids. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis*. 2016;1862(10):1861–70.
88. Korenke GC, Wilichowski E, Hunneman DH, Hanefeld F, Fuchs S, Krasemann E, et al. Cerebral adrenoleukodystrophy (ALD) in only one of monozygotic twins with an identical ALD genotype. *Ann Neurol*. 1996;40(2):254–7.
89. Raymond G V., Seidman R, Monteith TS, Kolodny E, Sathe S, Mahmood A, et al. Head trauma can initiate the onset of adreno-leukodystrophy. *J Neurol Sci*. 2010;290(1–2):70–4.
90. Weller M, Liedtke W, Petersen D, Opitz H, Poremba M. Very-late-onset adrenoleukodystrophy. *Neurology*. 1992;42(2):367–367.
91. Budhram A, Pandey SK. Activation of Cerebral X-linked Adrenoleukodystrophy after Head Trauma. *Can J Neurol Sci*. 2017;44(5):597–8.
92. Schaumburg HH. Adrenoleukodystrophy. *Arch Neurol*. 1975;32(9):577.
93. Musolino PL, Rapalino O, Caruso P, Caviness VS, Eichler FS. Hypoperfusion predicts lesion progression in cerebral X-linked adrenoleukodystrophy. *Brain*. 2012;135(9):2676–83.



94. Lauer A, Da X, Hansen MB, Boulouis G, Ou Y, Cai X, et al. ABCD1 dysfunction alters white matter microvascular perfusion. *Brain*. 2017;140(12):3139–52.
95. Weinhofer I, Zierfuss B, Hametner S, Wagner M, Popitsch N, MacHacek C, et al. Impaired plasticity of macrophages in X-linked adrenoleukodystrophy. *Brain*. 2018;141(8):2329–42.
96. Mallack EJ, van de Stadt S, Caruso PA, Musolino PL, Sadjadi R, Engelen M, et al. Clinical and radiographic course of arrested cerebral adrenoleukodystrophy. *Neurology*. 2020;94(24):e2499–507.
97. Lin JE, Armour EA, Heshmati A, Umandap C, Couto JJ, Iglesias AD, et al. Pearls & Oy-sters: Adolescent-onset adrenomyeloneuropathy and arrested cerebral adrenoleukodystrophy. *Neurology*. 2019;93(2):81–4.
98. Korenke GC, Pouwels PJW, Frahm J, Hunneman DH, Stoeckler S, Krasemann E, et al. Arrested cerebral adrenoleukodystrophy: A clinical and proton magnetic resonance spectroscopy study in three patients. *Pediatr Neurol*. 1996;15(2):103–7.
99. Choi HW, Raymond GV, Miller W. Rare Spontaneous Attenuation of Childhood Inflammatory Cerebral Adrenoleukodystrophy. *J Pediatr Neurol*. 2020;18(02):106–9.
100. Moser HW, Tutschka PJ, Brown FR, Moser AE, Yeager AM, Singh I, et al. Bone marrow transplant in adrenoleukodystrophy. *Neurology*. 1984;34(11):1410–1410.
101. Aubourg P, Blanche S, Jambaqué I, Rocchiccioli F, Kalifa G, Naud-Saudreau C, et al. Reversal of Early Neurologic and Neuroradiologic Manifestations of X-Linked Adrenoleukodystrophy by Bone Marrow Transplantation. *N Engl J Med*. 1990;322(26):1860–6.
102. Shapiro E, Krivit W, Lockman L, Jambaqué I, Peters C, Cowan M, et al. Long-term effect of bone-marrow transplantation for childhood-onset cerebral X-linked adrenoleukodystrophy. *Lancet*. 2000;356(9231):713–8.
103. Schönberger S, Roerig P, Schneider DT, Reifenberger G, Göbel U, Gärtner J. Genotype and protein expression after bone marrow transplantation for adrenoleukodystrophy. *Arch Neurol*. 2007;64(5):651–7.
104. Baumann M, Korenke GC, Weddige-Diedrichs A, Wilichowski E, Hunneman DH, Wilken B, et al. Haematopoietic stem cell transplantation in 12 patients with cerebral X-linked adrenoleukodystrophy. *Eur J Pediatr*. 2003;162(1):6–14.
105. Kühl JS, Kupper J, Baqué H, Ebell W, Gärtner J, Korenke C, et al. Potential Risks to Stable Long-term Outcome of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Children With Cerebral X-linked Adrenoleukodystrophy. *JAMA Netw open*. 2018;1(3):e180769.
106. Fitzpatrick AS, Loughrey CM, Johnston P, McKee S, Spence W, Flynn P, et al. Haematopoietic stem-cell transplant for adult cerebral adrenoleukodystrophy. *Eur J Neurol*. 2008;15(3):2007–8.
107. Hitomi T, Mezaki T, Tomimoto H, Ikeda A, Shimohama S, Okazaki T, et al. Long-term effect of bone marrow transplantation in adult-onset adrenoleukodystrophy. *Eur J Neurol*. 2005;12(10):807–10.
108. Barrett JP, Costello DA, O’Sullivan J, Cowley TR, Lynch MA. Bone marrow-derived macrophages from aged rats are more responsive to inflammatory stimuli. *J Neuroinflammation*. 2015;12(1):1–11.
109. Kühl JS, Suarez F, Gillett GT, Hemmati PG, Snowden JA, Stadler M, et al. Long-term outcomes of allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for adult cerebral X-linked adrenoleukodystrophy. *Brain*. 2017;140(4):953–66.
110. Waldhüter N, Köhler W, Hemmati PG, Jehn C, Peceny R, Vuong GL, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with myeloablative conditioning for adult cerebral X-linked adrenoleukodystrophy. *J Inherit Metab Dis*. 2019;42(2):313–24.
111. Boucher AA, Miller W, Shanley R, Ziegler R, Lund T, Raymond G, et al. Long-term outcomes after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for metachromatic leukodystrophy: the largest single-institution cohort report. *Orphanet J Rare Dis*. 2015;10(1):94.
112. van Rappard DF, Boelens JJ, van Egmond ME, Kuball J, van Hasselt PM, Oostrom KJ, et al. Efficacy of hematopoietic cell transplantation in metachromatic leukodystrophy: the Dutch experience. *Blood*. 2016;127(24):3098–101.
113. Cable C, Finkel RS, Lehky TJ, Biassou NM, Wiggs EA, Bunin N, et al. Unrelated umbilical cord blood transplant for juvenile metachromatic leukodystrophy: A 5-year follow-up in three affected siblings. *Mol Genet Metab*. 2011;102(2):207–9.
114. Chen X, Gill D, Shaw P, Ouvrier R, Troedson C. Outcome of Early Juvenile Onset Metachromatic Leukodystrophy after Unrelated Cord Blood Transplantation. *J Child Neurol*. 2016;31(3):338–44.
115. Tokimasa S, Ohta H, Takizawa S, Kusuki S, Hashii Y, Sakai N, et al. Umbilical cord-blood transplantations from unrelated donors in patients with inherited metabolic diseases: Single-institute experience. *Pediatr Transplant*. 2008;12(6):672–6.

116. Martin HR, Poe MD, Provenzale JM, Kurtzberg J, Mendizabal A, Escolar ML. Neurodevelopmental Outcomes of Umbilical Cord Blood Transplantation in Metachromatic Leukodystrophy. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2013;19(4):616–24.
117. Van Den Broek BA, Page K, Paviglianiti A, Hol J, Allewelt H, Volt F, et al. Early and late outcomes after cord blood transplantation for pediatric patients with inherited leukodystrophies. *Blood Adv.* 2018;2(1):49–60.
118. Solders M, Martin DA, Andersson C, Remberger M, Andersson T, Ringdén O, et al. Hematopoietic SCT: A useful treatment for late metachromatic leukodystrophy. *Bone Marrow Transplant.* 2014;49(8):1046–51.
119. De Hosson LD, Van De Warrenburg BPC, Preijers FWMB, Blijlevens NMA, Van Der Reijden BA, Kremer HPH, et al. Adult metachromatic leukodystrophy treated by allo-SCT and a review of the literature. *Bone Marrow Transplant.* 2011;46(8):1071–6.
120. Biffi A, Montini E, Lorioli L, Cesani M, Fumagalli F, Plati T, et al. Lentiviral Hematopoietic Stem Cell Gene Therapy Benefits Metachromatic Leukodystrophy. *Science (80- ).* 2013;341(6148):1233158.
121. Sessa M, Lorioli L, Fumagalli F, Acquati S, Redaelli D, Baldoli C, et al. Lentiviral haemopoietic stem-cell gene therapy in early-onset metachromatic leukodystrophy: an ad-hoc analysis of a non-randomised, open-label, phase 1/2 trial. *Lancet.* 2016;388(10043):476–87.
122. Beam D, Poe MD, Provenzale JM, Szabolcs P, Martin PL, Prasad V, et al. Outcomes of Unrelated Umbilical Cord Blood Transplantation for X-Linked Adrenoleukodystrophy. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2007;13(6):665–74.
123. Boelens J-J, Chiesa R, Duncan C, Jones SA, Kapoor N, Kühl J-S, et al. Transplant- and Disease-Related Outcomes of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplant in Patients with Cerebral Adrenoleukodystrophy Vary By Donor Cell Source, Conditioning Regimen, and Stage of Cerebral Disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2020;26(3):S211.
124. Fernandes JF, Bonfim C, Kerbauy FR, Rodrigues M, Esteves I, Silva NH, et al. Haploidentical bone marrow transplantation with post transplant cyclophosphamide for patients with X-linked adrenoleukodystrophy: A suitable choice in an urgent situation. *Bone Marrow Transplant.* 2018;53(4):392–9.
125. Kato S, Yabe H, Takakura H, Mugishima H, Ishige M, Tanaka A, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for inborn errors of metabolism: A report from the Research Committee on Transplantation for Inborn Errors of Metabolism of the Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare and the Working Group of the Japan Soci. *Pediatr Transplant.* 2016;20(2):203–14.
126. Kato K, Maemura R, Wakamatsu M, Yamamori A, Hamada M, Kataoka S, et al. Allogeneic stem cell transplantation with reduced intensity conditioning for patients with adrenoleukodystrophy. *Mol Genet Metab Reports.* 2019;18:1–6.
127. Matsukawa T, Yamamoto T, Honda A, Toya T, Ishiura H, Mitsui J, et al. Clinical efficacy of haematopoietic stem cell transplantation for adult adrenoleukodystrophy. *Brain Commun.* 2020;2(1):fz048.
128. Miller WP, Rothman SM, Nascene D, Kivisto T, Defor TE, Ziegler RS, et al. Outcomes after allogeneic hematopoietic cell transplantation for childhood cerebral adrenoleukodystrophy: The largest single-institution cohort report. *Blood.* 2011;118(7):1971–8.
129. Mitchell R, Nivison-Smith I, Anazodo A, Tiedemann K, Shaw PJ, Teague L, et al. Outcomes of haematopoietic stem cell transplantation for inherited metabolic disorders: A report from the Australian and New Zealand Children’s Haematology Oncology Group and the Australasian Bone Marrow Transplant Recipient Registry. *Pediatr Transplant.* 2013;17(6):582–8.
130. Peters C, Charnas LR, Tan Y, Ziegler RS, Shapiro EG, DeFor T, et al. Cerebral X-linked adrenoleukodystrophy: The international hematopoietic cell transplantation experience from 1982 to 1999. *Blood.* 2004;104(3):881–8.
131. Raymond G V., Aubourg P, Paker A, Escolar M, Fischer A, Blanche S, et al. Survival and Functional Outcomes in Boys with Cerebral Adrenoleukodystrophy with and without Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2019;25(3):538–48.
132. Tran C, Patel J, Stacy H, Mamak EG, Faghfoury H, Raiman J, et al. Long-term outcome of patients with X-linked adrenoleukodystrophy: A retrospective cohort study. *Eur J Paediatr Neurol.* 2017;21(4):600–9.
133. Peters C, Schrappe M, von Stackelberg A, Schrauder A, Bader P, Ebell W, et al. Stem-Cell Transplantation in Children With Acute Lymphoblastic Leukemia: A Prospective International Multicenter Trial Comparing Sibling Donors With Matched Unrelated Donors—The ALL-SCT-BFM-2003 Trial. *J Clin Oncol.* 2015;33(11):1265–74.

134. Bartelink IH, van Reij EML, Gerhardt CE, van Maarseveen EM, de Wildt A, Versluys B, et al. Fludarabine and Exposure-Targeted Busulfan Compares Favorably with Busulfan/Cyclophosphamide-Based Regimens in Pediatric Hematopoietic Cell Transplantation: Maintaining Efficacy with Less Toxicity. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014;20(3):345–53.
135. Nowaczyk MJM, Saunders EF, Tein I, Blaser SI, Clarke JTR. Immunoablation does not delay the neurologic progression of X-linked adrenoleukodystrophy. *J Pediatr.* 1997;131(3):453–5.
136. Capotondo A, Milazzo R, Politi LS, Quattrini A, Palini A, Plati T, et al. Brain conditioning is instrumental for successful microglia reconstitution following hematopoietic stem cell transplantation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109(37):15018–23.
137. Böttcher C, Fernández-Klett F, Gladow N, Rolfes S, Priller J. Targeting Myeloid Cells to the Brain Using Non-Myeloablative Conditioning. Tjwa M, editor. *PLoS One.* 2013;8(11):e80260.
138. Wilkinson FL, Sergijenko A, Langford-Smith KJ, Malinowska M, Wynn RF, Bigger BW. Busulfan conditioning enhances engraftment of hematopoietic donor-derived cells in the brain compared with irradiation. *Mol Ther.* 2013;21(4):868–76.
139. Pierpont EI, Eisengart JB, Shanley R, Nascene D, Raymond G V., Shapiro EG, et al. Neurocognitive trajectory of boys who received a hematopoietic stem cell transplant at an early stage of childhood cerebral adrenoleukodystrophy. *JAMA Neurol.* 2017;74(6):710–7.
140. Holtick U, Albrecht M, Chemnitz JM, Theurich S, Skoetz N, Scheid C, et al. Bone marrow versus peripheral blood allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for haematological malignancies in adults. *Cochrane database Syst Rev.* 2014;2014(4):CD010189.
141. Tolar J, Orchard PJ, Bjoraker KJ, Ziegler RS, Shapiro EG, Charnas L. N-acetyl-L-cysteine improves outcome of advanced cerebral adrenoleukodystrophy. *Bone Marrow Transplant.* 2007;39(4):211–5.
142. Eichler F, Duncan C, Musolino PL, Orchard PJ, De Oliveira S, Thrasher AJ, et al. Hematopoietic Stem-Cell Gene Therapy for Cerebral Adrenoleukodystrophy. *N Engl J Med.* 2017;377(17):1630–8.
143. Orchard PJ, Eichler F, Duncan C, De Oliveira S, Thrasher AJ, Kühl J-S, et al. Lenti-D Hematopoietic Stem Cell Gene Therapy Stabilizes Neurologic Function in Boys with Cerebral Adrenoleukodystrophy. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2020;26(3):S37–8.
144. Adams SJ, Kirk A, Auer RN. Adult-onset leukoencephalopathy with axonal spheroids and pigmented glia (ALSP): Integrating the literature on hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids (HDLS) and pigmentary orthochromatic leukodystrophy (POLD). *J Clin Neurosci.* 2018;48:42–9.
145. Mahmood A, Raymond G V., Dubey P, Peters C, Moser HW. Survival analysis of haematopoietic cell transplantation for childhood cerebral X-linked adrenoleukodystrophy: a comparison study. *Lancet Neurol.* 2007;6(8):687–92.
146. Loes DJ, Fatemi A, Melhem ER, Gupte N, Bezman L, Moser HW, et al. Analysis of MRI patterns aids prediction of progression in X-linked adrenoleukodystrophy. *Neurology.* 2003;61(3):369–74.
147. Loes DJ, Hite S, Moser H, Stillman AE, Shapiro E, Lockman L, et al. Adrenoleukodystrophy: a scoring method for brain MR observations. *AJNR Am J Neuroradiol.* 1994;15(9):1761–6.
148. Yalcin K, Çelen SS, Daloglu H, Demir MK, Öztürkmen S, Pasayev D, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with childhood cerebral adrenoleukodystrophy: A single-center experience “Better prognosis in earlier stage.” *Pediatr Transplant.* 2021;25(4):e14015.
149. Polgreen LE, Chahla S, Miller W, Rothman S, Tolar J, Kivisto T, et al. Early diagnosis of cerebral X-linked adrenoleukodystrophy in boys with Addison’s disease improves survival and neurological outcomes. *Eur J Pediatr.* 2011;170(8):1049–54.
150. Kemper AR, Brosco J, Comeau AM, Green NS, Grosse SD, Jones E, et al. Newborn screening for X-linked adrenoleukodystrophy: evidence summary and advisory committee recommendation. *Genet Med.* 2017;19(1):121–6.
151. Wiens K, Berry SA, Choi H, Gaviglio A, Gupta A, Hietala A, et al. A report on state-wide implementation of newborn screening for X-linked Adrenoleukodystrophy. *Am J Med Genet Part A.* 2019;179(7):1205–13.
152. Mallack EJ, Turk BR, Yan H, Price C, Demetres M, Moser AB, et al. <scp>MRI</scp> surveillance of boys with X-linked adrenoleukodystrophy identified by newborn screening: Meta-analysis and consensus guidelines. *J Inherit Metab Dis.* 2021;44(3):728–39.
153. Eichler F, Mahmood A, Loes D, Bezman L, Lin D, Moser HW, et al. Magnetic resonance imaging detection of lesion progression in adult patients with X-linked adrenoleukodystrophy. *Arch Neurol.* 2007;64(5):659–64.
154. Lund TC, Ng M, Orchard PJ, Loes DJ, Raymond G V., Gupta A, et al. Volume of Gadolinium Enhancement and Successful Repair of the Blood-Brain Barrier in Cerebral Adrenoleukodystrophy. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2020;26(10):1894–9.

155. Miller WP, Mantovani LF, Muzic J, Rykken JB, Gawande RS, Lund TC, et al. Intensity of MRI gadolinium enhancement in cerebral adrenoleukodystrophy: A biomarker for inflammation and predictor of outcome following transplantation in higher risk patients. *Am J Neuroradiol*. 2016;37(2):367–72.
156. van Geel BM, Poll-The BT, Verrips A, Boelens JJ, Kemp S, Engelen M. Hematopoietic cell transplantation does not prevent myelopathy in X-linked adrenoleukodystrophy: a retrospective study. *J Inher Metab Dis*. 2015;38(2):359–61.
157. Bougneres P, Hacein-Bey-Abina S, Labik I, Adamsbaum C, Castaignede C, Bellesme C, et al. Long-term follow-up of Hematopoietic Stem-Cell Gene Therapy for Cerebral Adrenoleukodystrophy. *Hum Gene Ther*. 2021;hum.2021.053. Available from: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/hum.2021.053>
158. George BM, Kao KS, Kwon H-S, Velasco BJ, Poyser J, Chen A, et al. Antibody Conditioning Enables MHC-Mismatched Hematopoietic Stem Cell Transplants and Organ Graft Tolerance. *Cell Stem Cell*. 2019;25(2):185-192.e3.
159. Pang WW, Czechowicz A, Logan AC, Bhardwaj R, Poyser J, Park CY, et al. Anti-CD117 antibody depletes normal and myelodysplastic syndrome human hematopoietic stem cells in xenografted mice. *Blood*. 2019;133(19):2069–78.

## 6. Danksagung

Die vorgelegte Habilitationsschrift stellt klinische Arbeiten vor, die im Wesentlichen auf Transplantationsergebnissen von Patienten der Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Onkologie und Hämatologie (CC17) sowie der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hämatologie, Onkologie und Tumorimmunologie der Charité Campus Virchow-Klinikum beruhen.

Mein erster Dank gilt dem langjährigen leitenden Oberarzt der Stammzelltransplantation der Charité Campus Virchow-Klinikum, Wolfram Ebell, den ehemaligen Klinikleitern Professores Gerhard Gaedicke und Günther Henze sowie allen Kolleginnen und Kollegen der Kinderklinik, mit denen ich über Jahre gut zusammengearbeitet habe. Wolfram Ebell verdanke ich das Interesse an der Stammzelltransplantation nicht-maligner Erkrankungen. Danken möchte ich auch Gabriele Strauß (Kinderhämatologie), Bernhard Weschke (Neuropädiatrie) und Birgit Spohrs (Neuroradiologie) und Philipp Hemmati (Innere Medizin), die diese Arbeiten über Jahre an der Charité mit unterstützt haben. Mein besonderer Dank gilt Wolfgang Köhler, der meine Faszination an der Adrenoleukodystrophie geweckt hat, sowie der uneigennützig Unterstützung von Frau Professor Renate Arnold, ehemalige Leiterin des adulten Stammzelltransplantationsprogrammes. Frau Professor Angelika Eggert, Direktorin der Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Onkologie und Hämatologie danke ich dafür, dass sie das Projekt unterstützt und meinen Ehrgeiz entfacht hat, die Arbeit doch noch fertigzustellen. Meinen ehemaligen Chefs in der Stanford University, Professores Karl Georg Blume und Branimir Sikič danke ich für die Einführung in das wissenschaftliche Arbeiten. Meinem jetzigen Chef, Professor Holger Christiansen, Leiter der Abteilung für pädiatrische Onkologie, Hämatologie und Hämostaseologie am Universitätsklinikum Leipzig bin ich dankbar für die umfassende Unterstützung beim Aufbau eines eigenen Transplantationsprogrammes.

Nicht genug danken kann ich meiner Familie, meinen Eltern, meiner Frau Sima sowie meinen Söhnen Carl-Christian und Georg-Philipp, die die Arbeit zwar teils mit Skepsis, aber doch immer wohlwollend und unterstützend über Jahrzehnte begleitet und mir über so manche Tiefs hinweggeholfen haben.

Abschließend möchte ich ganz besonders allen Patienten, ihren Familien und den zuweisenden Ärzten danken, dass sie uns trotz manch bitterer Rückschläge vertraut haben – und der Pflege besonders auf Station 39, ohne die unsere Arbeit sinnlos gewesen wäre.

## 7. Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

Berlin, den 04.09.2021