

Spastická paraparéza jako klinická manifestace závažné X-vázané adrenoleukodystrofie

RNDr. Anna Uhrová Mészárosová, Ph.D.¹, MUDr. Jana Laštůvková², MUDr. Filip Cihlář, Ph.D.³, doc. MUDr. Alena Šantavá, CSc.⁴, MUDr. Radim Mazanec, Ph.D.⁵

¹Neurogenetická laboratoř, Klinika dětské neurologie 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

²Oddělení lékařské genetiky, Krajská zdravotní, a. s., Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o. z.

³Radiologická klinika Fakulty zdravotnických studií UJEP a Krajské zdravotní, a. s. – Masarykovy nemocnice v Ústí nad Labem, o. z.

⁴Ústav lékařské genetiky, Fakultní nemocnice Olomouc

⁵Neurologická klinika 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

Patogenní varianty v genu *ABCD1* jsou genetickou příčinou X-vázané adrenoleukodystrofie (X-ALD). X-ALD se může manifestovat jako závažná letální adrenoleukodystrofie (ALD), mírnější adrenomyeloneuropatie (AMN) nebo adrenální insuficience (Addisonova nemoc), ale může se klinicky projevit jen jako mírná spastická paraparéza, zejména u žen přenašeček. Během několika let genetické diagnostiky dědičných spastických paraparéz (HSP) byly diagnostikovány čtyři české rodiny s patogenní variantou v genu *ABCD1*, kdy byl některý ze členů rodiny odeslán k vyšetření genů spojovaných s hereditární spastickou paraparézou, která byla jediným klinickým projevem nemoci, někdy dokonce u více členů rodiny. Až na základě genetické diagnostiky a po nalezení kauzální patogenní varianty v genu *ABCD1* bylo možné zpětně správně stanovit diagnózu některých příslušníků rodin, neboť byli vedeni (případně i zemřeli) s diagnózou roztroušená skleróza, nemoci motoneuronu aj. Znalost kauzální patogenní varianty je velmi důležitá a na jejím základě lze pak v rodině stanovit riziko zejména pro mužské jedince, protože u nich vzhledem k X-vázané dědičnosti hrozí závažný až fatální průběh onemocnění. X-vázaná dědičnost v rodině, mírnější klinické projevy v podobě spastické paraparézy u žen a projevy ALD, AMN nebo adrenální insuficience (Addisonova nemoc) u mužů v rodině mohou být dobrým vodítkem při podezření na tuto diagnózu. Počet takových rodin může být v ČR mnohem vyšší. Jedním z klinických projevů a biochemickým ukazatelem onemocnění jsou vysoké hladiny mastných kyselin s velmi dlouhým řetězcem (VLCFA) v krevním séru, které jsou jednoduše diagnostikovatelné. Pro genetické potvrzení diagnózy jsou k dispozici klasické i nové metody genomiky.

Klíčová slova: adrenoleukodystrofie, adrenomyeloneuropatie, spastická paraparéza, *ABCD1* gen.

Spastic paraparesis as a clinical manifestation of severe X-linked adrenoleukodystrophy

Pathogenic variants in the *ABCD1* gene are the genetic cause of X-linked adrenoleukodystrophy (X-ALD). X-ALD can manifest as severe fatal adrenoleukodystrophy (ALD), milder adrenomyeloneuropathy (AMN), or adrenal insufficiency (Addison's disease), but it can present clinically only as mild spastic paraparesis, particularly in female carriers. During several years of genetically diagnosing hereditary spastic paraparesis (HSP), four Czech families were diagnosed with a pathogenic variant in the *ABCD1* gene when one of the family members was referred for testing of genes associated with hereditary spastic para-

DECLARATIONS:

Declaration of originality:

The manuscript is original and has not been published or submitted elsewhere.

Ethical principles compliance:

The authors attest that their study was approved by the local Ethical Committee and is in compliance with human studies and animal welfare regulations of the authors' institutions as well as with the World Medical Association Declaration of Helsinki on Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects adopted by the 18th WMA General Assembly in Helsinki, Finland, in June 1964, with subsequent amendments, as well as with the ICMJE Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals, updated in December 2018, including patient consent where appropriate.

Conflict of interest:

Not applicable.

Consent for publication:

Not applicable.

Authors' contributions:

Not applicable.

Cit. zkr: *Neurol. Praxi.* 2024;25(3):231-238

<https://doi.org/10.36290/neu.2023.037>

Článek přijat redakcí: 25. 4. 2023

Článek přijat k publikaci: 29. 5. 2023

RNDr. Anna Uhrová Mészárosová, Ph.D.

anna.meszarosova@fnmotol.cuni.cz

paresis that was the only clinical manifestation of the disease, sometimes even in several family members. Only on the basis of genetic diagnosis and after identification of the causative pathogenic variant in the *ABCD1* gene, it was possible to retrospectively determine the correct diagnosis of some family members, as they had been diagnosed (or died) with multiple sclerosis, motor neurone disease, and others. The knowledge of the causative pathogenic variant is very important and it is on its basis that the risk can be determined in the family, particularly for male individuals because they are at risk of severe to fatal course of the disease due to X-linked inheritance. X-linked inheritance in the family, milder clinical manifestations in the form of spastic paraparesis in women, and manifestations of ALD, AMN, or adrenal insufficiency (Addison's disease) in male family members can all be good clues to lead one to suspect this diagnosis. The number of such families may be much higher in the Czech Republic. One of the clinical manifestations and biochemical markers of the disease are high levels of very long-chain fatty acids (VLCFA) in the blood serum which are easy to diagnose. Classic as well as novel methods of genomics are available for genetic confirmation of the diagnosis.

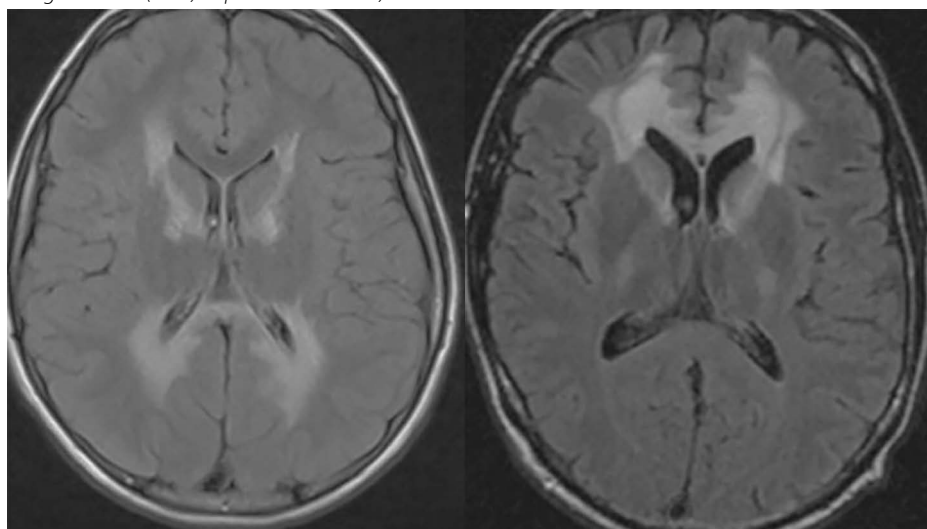
Key words: adrenoleukodystrophy, adrenomyeloneuropathy, spastic paraparesis, *ABCD1* gene.

X-vázaná adrenoleukodystrofie (MIM 300100) je závažné dědičné neurodegenerativní onemocnění, způsobené patogenními variantami v genu *ABCD1* (dříve *ALDP*) lokalizovaném na X chromozomu. Pro onemocnění je tak charakteristická X-vázaná dědičnost, kdy postižení jsou jedinci mužského pohlaví a ženy jsou asymptomatickými přenašečkami nebo jsou u nich projevy mírnější. Odhadovaná incidence onemocnění je 1 : 17 000 narozených (Bezman et al., 2001), prevalence v populaci je 1–5 : 100 000, což řadí X-vázanou ALD mezi nejčastější peroxisomální onemocnění. Onemocnění se může manifestovat jako rychle progredující závažná až letální adrenoleukodystrofie s nástupem onemocnění v dětství či v dospělosti, nebo jako mírnější adrenomyeloneuropatie s nebo bez adrenální insuficience (Addisonova nemoc) nebo jako Addisonova nemoc samostatně. Někteří jedinci zůstávají bezpříznakoví po celý život, a to vzácně i muži. Často se u pacientů jedná o kombinaci popsanych klinických projevů.

Cerebrální forma adrenoleukodystrofie (ALD)

U 31–35 % mužů/chlapců dojde k rozvoji rychle progredující a závažné adrenoleukodystrofie se vznikem demyelinizačních ložisek v bílé hmotě (Obr. 1) s časným začátkem v dětství ve 3–11 letech. Počáteční klinická manifestace může být zprvu nenápadná, u chlapců může dojít ke zhoršení školních výsledků, neklidu, objeví se problémy s udržením pozornosti či s emoční labilitou. Postupně se zhoršuje jemná motorika a dochází k rozvoji poruch sluchu a vizu, centrální kvadraparézy tak, jak postupuje demyelinizace (Turk et al., 2020;

Obr. 1. MRI mozku s obrazem leukodystrofie, ve většině případů začíná demyelinizace v parieto-okcipitální části nebo periventrikulárně (vlevo), vzácněji ve frontální oblasti (vpravo) (FLAIR zobrazení, převzato z Engelen et al. (2012) Orphanet J Rare Dis)



Kemp, Berger et Auborg, 2012; Kemp et al., 2016). Cerebrální forma se může projevit u 4–7 % mužských jedinců až v adolescentním věku 11–21 let. U 20 % mužů pak dojde k rozvoji cerebrální formy v dospělosti (Mahmood et al., 2005; van Geel et al., 2001). U cerebrální formy nemoci jsou abnormality na MRI mozku viditelné dokonce již dva roky před vypuknutím a objevením se jasných neurologických příznaků (Mahmood et al., 2005; Moser, Raymond et Dubey, 2005). Progrese cerebrální formy onemocnění je velice rychlá, prognóza je nepříznivá, bez léčby končí pacienti ve vegetativním stavu nebo umírají v průměru do dvou let od vypuknutí prvních příznaků. I při podané léčbě většina chlapců/mužů umírá do deseti let od prvních příznaků. Pokud je přežívání delší, pak ve vegetativním stavu (Kemp, Berger et Aubourg, 2012; Mahmood et al., 2005; Raymond, Jones et Moser, 2007).

Adrenomyeloneuropatie (AMN)

U většiny jedinců s patogenní variantou v *ABCD1* genu se onemocnění projevuje jako mírnější, pomalu progredující adrenomyeloneuropatie (AMN). U 40–45 % mužů se rozvine progresivní adrenomyeloneuropatie (AMN) ve věku 20–40 let. V radiologickém obrazu je typická atrofie míchy, což je důležité pro diferenciální diagnostiku (např. vůči roztroušené skleróze). Jako časný příznak AMN se rozvine právě spastická chůze a spastická paraparéza, mnohdy jako první a dlouho trvající jediný klinický projev. Postupně mohou být přítomny poruchy sfinkterů a erektilní dysfunkce. Závažnost projevů může být různá, problémy s chůzí u některých mužů vedou až k invaliditě a upoutání na invalidní vozík, zatímco u některých jsou jen velmi mírné projevy až do vysokého věku (60 let a více) (Turk et al., 2020; Engelen et al., 2012). Postiženi mohou být i periferní nervy a mohou být přítom-

Tab. 1. Klinické projevy onemocnění X-vázané adrenoleukodystrofie (převzato a upraveno podle Turk et al. (2020) *Int J Dev Neurosci*)

ALD fenotyp	Klinické projevy	Reportovaná frekvence a věk nástupu
Muži		
Dětská cerebrální forma	Rychle progredující kognitivní a neurologický deficit, letální nebo úplná invalidita/vegetativní stav do 2, max. 10 let; demyelinizace bílé hmoty mozku	31–35 % 3–11 let věku
Adolescentní cerebrální forma	Viz dětská cerebrální forma, nástup později, o něco pomalejší progres	4–7 % 11–21 let věku
Adultní cerebrální forma	Demence, neurologický, kognitivní a behaviorální deficit; míra progresu je variabilnější než u dětské formy	20 % (van Geel et al., 2001)
Adrenomyeloneuropatie (AMN)	Slabost, spasticita, dysfunkce močového měchýře, progresivní porucha hybnosti vedoucí až k invaliditě; distální axonopatie, atrofie míchy, periferní neuropatie	40–45 % 3.–4. dekáda
Adrenální insuficience (Addisonova nemoc)	Adrenální dysfunkce bez neurologických projevů; většinou vede k rozvoji AMN	Časté v dětském věku
Asymptomatictí	Žádné projevy neurologické/adrenální insuficience. Podrobné vyšetření často potvrdí adrenální hypofunkci nebo mírné známky AMN u dospělých	Časté v dětském věku, 50 % asymptomatických rozvine AMN během deseti let
Ženy		
Adrenomyeloneuropatie	Viz AMN u mužů, s pozdějším nástupem a pomalejší progresí	Zvyšuje se s věkem; odhadováno 50 % > 40 let; 65 % do 65 let
Cerebrální forma	Velice vzácná	Několik reportovaných případů (Fatemi et al., 2003)
Adrenální insuficience (Addisonova nemoc)	Velice vzácná u žen, nevede k rozvoji AMN jako u mužů	1 %
Asymptomatické	Žádné projevy neurologické/adrenální insuficience	

Obr. 2. Ztráta vlasů u pacientů s adrenální dysfunkcí (převzato z Engelen et al. (2012) *Orphanet J Rare Dis*)



ny dysestezie (van Geel et al., 1996). I když je AMN mírnější formou nemoci, přesto i u 20 % dospělých mužů s AMN dojde nakonec k rychlé progresi s postižením mozku vedoucí k invaliditě až smrti (van Geel et al., 2001).

U 65–88 % žen, které jsou heterozygotní nosičky patogenní varianty v genu *ABCD1*, dojde také k rozvoji symptomů myeloneuropatie, příznaky bývají mírnější a omezené na poruchy chůze a spastickou paraparézu. Postižení mozku nebo rozvoj adrenální insuficience jsou u žen vzácné. K rozvoji AMN u žen dochází až v pozdějším věku, obvykle v postmenopauzálním období, nicméně byly popsány i ženy, které měly první symptomy už ve dvaceti letech. Naopak část žen zůstává po celý život asymptomatických (Engelen et al., 2014; Dubey et al., 2005; Huffnagel et al., 2019; Huffnagel et al., 2019).

Adrenální dysfunkce (Addisonova nemoc)

U většiny mužů s patogenní variantou v genu *ABCD1* se rozvine během života adrenální insuficience. Adrenální dysfunkce může být i jediným projevem onemocnění. Je přítomna u 90 % chlapců s neurologickou symptomatologií celkově a u 70 % mužů s AMN. Obecně u 80 % mužů s ALD hrozí celoživotně adrenální insuficience a selhání nadledvin, přičemž u 46,7 % se rozvine již v dětství (6 měsíců–10 let), u 28,6 % ve věku 10–40 let a u pouze 5,6 % ve věku > 40 let (Huffnagel et al., 2019).

Adrenální insuficience začíná typicky v první dekádě života (Blevins et al., 1994). Klinicky se projevuje únavou, hyperpigmentací kůže, nápadné může být vypadávání vlasů v temenní části hlavy (Obr. 2). Indikátorem adrenální dysfunkce jsou vyšší hladiny adrenokortikotropního hormonu (ACTH) a nízké hladiny kortizolu a aldosteronu v plazmě. Nediagnostikovaná adrenální dysfunkce může vyústit až v Addisonskou krizi s rychlým rozvojem a zhoršením a možným fatálním průběhem.

Asymptomatictí jedinci

Někteří jedinci s patogenní variantou v *ABCD1* genu, převážně ale ženy, mohou zůstat po dlouhou dobu až celoživotně asymptomatictí a nerozvinou se u nich žádné z popsaných příznaků. Jejich počet klesá s přibývajícím věkem, běžně jsou asymptomatictí chlapci do 4 let věku, a naopak vzácně jsou asymptomatictí muži nad 40 let života (Moser, Mahmood et Raymond, 2007).

Klinická variabilita

Vzhledem k variabilitě a nespecifickým klinickým projevům může být cesta ke správné diagnóze dlouhá a v rodinách, kde se patogenní varianta v genu *ABCD1* vyskytuje, hrozí u hemizygotních mužů riziko závažných až letálních zdravotních komplikací. Pacienti s mírnými projevy mohou být dlouho vedeni například pod diagnózou roztroušená skleróza (Dvorakova et al., 2006). Klinické projevy nemoci a závažnost onemocnění navíc mohou být velmi rozdílné i v rámci jedné rodiny, a to dokonce i u monozygotických dvojčat, i přesto, že nesou stejnou patogenní variantu (Di Rocco, Doria-Lamba et Caruso, 2001; Korenke et al., 1996).

Tab.2. Rodiny, ve kterých byla nalezena kauzální patogenní varianta v genu *ABCD1* jako příčina spastické paraparézy u některého člena rodiny; v rodinách bylo potvrzeno onemocnění X-vázané adrenoleukodystrofie; nomenklatura variant dle NM_000033.4

Rodina A:	Rodina B:
Varianta <i>c.799del, p.(Glu267Serfs*69)</i> zachycena u probanda (<i>III/4</i>; *1979), odeslán k vyšetření panelu genů spojovaných s hereditárními spastickými paraparézami (HSP). Od cca 35 let sledován neurologem pro bolesti DK a zad (zpočátku připisováno poúrazovému stavu). Od stejného věku sledován urologem pro časté močení a erektilní dysfunkci. U matky probanda (<i>II/2</i>; *1953) je popisována spastická paraparéza, její otec (<i>I/1</i>; *) zemřel v 52 letech z nejasných důvodů, v anamnéze uvedena Addisonova choroba, od 50 let špatně chodil. U probanda (<i>III/4</i>) je na MRI mozku z roku 2022 typický obraz odpovídající adrenoleukodystrofii a jasná progresse nálezu oproti MRI z roku 2016 (Obr. 4), biochemicky u něho byla potvrzena vyšší hladina VLCFA. Patogenní varianta následně prokázána v heterozygotním stavu u matky probanda (<i>II/2</i>) a u jeho sestry (<i>III/2</i>; *1975), která je zatím asymptomatická, a v hemizygotním stavu u synovce (<i>IV/1</i>; *1999), který zatím také nemá žádné projevy onemocnění.	Varianta <i>c.1515C>G, p.(Ile505Met)</i> detekována v hemizygotním stavu u probanda (<i>III/1</i>). Proband (<i>II/1</i>; *1964) byl odeslán k vyšetření panelu genů spojovaných s HSP. Neurologický nález u probanda odpovídal nekomplikované formě HSP, bez známek neuropatie, na MRI mozku a krční míchy nebyl nález odpovídající demyelinizačnímu postižení. Obtíže s chůzí začaly ve 45 letech. Jeho matka (<i>I/2</i>; *1938) má lehkou spastickou paraparézu, sestra (<i>II/2</i>; *1970) se cítí subjektivně zdravá, podrobné neurologické vyšetření ukázalo mírné příznaky spastické paraparézy (Babinski, snížené vibrační citi). U obou byla prokázána přítomnost patogenní varianty v heterozygotním stavu. Vyšetření VLCFA u probanda a jeho matky prokázalo zvýšené hladiny, u sestry (<i>II/2</i>) je hladina C:26 normální, ale těsně pod hranici normy, poměr C26:0/22:0 je zvýšený. Další členové rodiny vyšetření nebyli, sestra (<i>II/2</i>) má dva syny (dvojčata) (<i>III/1</i> a <i>III/2</i>; *2004), u každého z nich je 50% riziko, že zdědil patogenní variantu od matky, a tedy 50% riziko rozvoje onemocnění.
A:	B:
Rodina C: Varianta <i>c.1552C>T, p.(Arg518Trp)</i> zachycena v heterozygotním stavu u probandky (<i>III/1</i>; *1972), odeslána na vyšetření panelu genů spojovaných s HSP pro mírnou spastickou paraparézu, nástup prvních obtíží byl kolem 40. roku věku. Probandka s pozitivní rodinnou anamnézou, její sestra (<i>III/4</i>; *1966) má neurologické projevy a byla vedena pod diagnózou spinocereberální ataxie, probandčin otec (<i>II/4</i>; *1939) a jeho bratr (<i>II/3</i>; *) zemřeli ve věku 46 a 50 let, oba byli nejprve vedeni pod diagnózou spastická paraparéza a později se u nich začaly projevovat příznaky presenilní demence, geneticky vyšetřeni nebyli. Zda byly příznaky presenilní demence projevem nastupující cerebrální formy, nebo měly jinou příčinu, nelze posoudit. Paternální babička (<i>I/2</i>; *) zemřela ve vysokém věku, informace o neurologických obtížích u ní nejsou dostupné. U dcery probandky (<i>IV/1</i>; *1993) byla následně potvrzena patogenní varianta v heterozygotním stavu a je dispenzarizována v Centru metabolických poruch Kliniky pediatrie a dědičných poruch metabolismu VFN a 1. LF UK, Praha. Nikdo další v rodině nebyl geneticky vyšetřen pro přítomnost nalezené varianty v genu <i>ABCD1</i>, ale dle rodokmenu se v rodině jedná o X-vázanou dědičnost, a lze předpokládat, že sestra probandky (<i>III/4</i>) je heterozygotní nosička varianty, otec probandky (<i>II/4</i>) i jeho bratr (<i>II/3</i>) byli hemizygoti a rozvinula se u nich adultní forma adrenoleukodystrofie. Maternální babička (<i>I/2</i>) byla obligátní heterozygotní nosičkou varianty a mohla mít jen mírné příznaky nebo zůstala asymptomatickou nosičkou varianty.	Rodina D: Varianta <i>c.303G>C, p.(Leu101Phe)</i> zachycena v heterozygotním stavu u probandky (<i>III/2</i>; *1959), problémy s chůzí začaly po 40. roce věku, vedena pod diagnózou roztroušená skleróza. Po 14 letech trvání nemoci vzhledem k progresi vysloveno podezření na spastickou paraparézu, probandka odeslána k vyšetření panelu genů spojovaných s HSP. Její otec (<i>II/1</i>; *1928) měl od 50 let problémy s chůzí a od 65 let byl již zcela imobilní. Další jeho dvě sestry měly údajně problémy s chůzí. U probandčina syna (<i>IV/1</i>; *1980) začaly ve 33 letech problémy s chůzí stejného charakteru jako u matky a byl veden pod diagnózou spastická paraparéza. Následná genetická analýza u něho prokázala variantu v hemizygotním stavu. Progrese onemocnění u syna je pomalá, na MRI krční páteře a míchy (v r. 2019) nebyla patrna žádná patologická ložiska, známky atrofie nejsou uvedeny, dle MEP odpovídal nález demyelinizačnímu postižení v oblasti míchy. Probandka má dále dceru (<i>IV/3</i>; *?), která je zdravá.
C:	D:

Tab. 3. Patogenní varianty v genu *ABCD1* nalezené u čtyř českých rodin; kauzální varianta byla diagnostikována na základě klinického podezření na spastickou paraparézu u některého člena rodiny; nomenklatura variant dle NM_000033.4

Rodina	Patogenní varianta	Typ varianty	Vliv na protein	Popsaná/nová
A	c.799del, p.(Glu267Serfs*69)	frame shift (posun čtecího rámce)	předčasné ukončení syntézy proteinu	Krasemann et al. (1996) Hum Genet
B	c.1515C>G, p.(Ile505Met)	missense	záměna aminokyseliny	uvedena v ALD Variants Database (www.adrenoleukodystrophy.info)
C	c.1552C>T, p.(Arg518Trp)	missense	záměna aminokyseliny	opakovaně popsána např. Fanen (1994) J Clin Invest
D	c.303G>C, p.(Leu101Phe)	missense	záměna aminokyseliny	nová, nepopsaná

Zatím nebyla prokázána zjevná korelace mezi typem patogenní varianty (viz dále kapitola Gen *ABCD1* a dědičnost onemocnění), stupněm kumulace a hladinami VLCFA v plazmě (viz dále kapitola Protein ATP-binding cassette sub-family D member 1 a kumulace VLCFA), závažností projevů a věku nástupu onemocnění. Míra postižení je proto těžko predikovatelná (Kemp, Berger et Aubourg, 2012).

Spastická paraparéza jako projev nemoci

Patogenní varianty v genu *ABCD1* se jako spastická paraparéza manifestují většinou u žen, ale i určitého procenta mužů. Neurogenetická laboratoř Kliniky dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol vyšetřuje od roku 2014 pacienty se suspektní hereditární spastickou paraparézou (HSP) pomocí NGS (next generation sequencing) panelu genů popsáných s HSP. Mezi celkem cca 250 vyšetřenými pacienty se suspektní HSP byli zachyceni čtyři pacienti ze čtyř rodin s patogenní variantou v genu *ABCD1* jako příčinou jejich spastické paraparézy (Tab. 2 a 3). Dvě z detekovaných variant byly již dříve popsány, varianta c.799del (rodina A) jako příčina adrenoleukodystrofie (Krasemann et al., 1996) a varianta c.1552C>T (rodina C) opakovaně ve více rodinách s fenotypem AMN, dětské formy ALD nebo adrenální insuficience (Fanen et al., 1994; Guettsches et al., 2010). Varianta c.1515C>G (rodina B) je uvedena v databázi www.adrenoleukodystrophy.info bez podrobnější informace. Varianta c.303G>C (rodina D) je dosud nepopsaná. Ani jedna z variant nemá uvedenou frekvenci v populačních databázích (GnomAD, <https://gnomad.broadinstitute.org>), jedná se tedy o varianty vzácné, které nebyly nalezeny u zdravých osob, tento fakt podporuje jejich kauzalitu. U pacientů byla následným vyšetřením potvrzena vysoká

dina VLCFA, což upřesnilo diagnózu X-vázané adrenoleukodystrofie v rodině. Zpětným dohledáním v rodinné anamnéze a dovyšetřením dalších členů rodiny bylo možné vysvětlit (u některých členů rodin zpětně nebo i posmrtně) příčinu klinických obtíží, které (jak již bylo uvedeno) mohou být i v rámci jedné rodiny rozdílné. Spastická paraparéza u některého ze členů byla v těchto rodinách ve skutečnosti vodítkem ke stanovení přesné diagnózy, mnohdy byli další členové rodiny vedeni i po více let pod nesprávnou nebo nejasnou diagnózou.

Ačkoliv je spastická paraparéza de facto jen jedním z možných klinických projevů X-vázané adrenoleukodystrofie, lze naopak říct, že patogenní varianty v genu *ABCD1* jsou dle našich dat nejčastější diagnostikovanou příčinou spastické paraparézy s X-vázanou dědičností v ČR, i když se ve skutečnosti jedná o onemocnění X-ALD, manifestující se jako spastická paraparéza. Přesná prevalence X-ALD v České republice není známa. V předchozích studiích týkajících se českých pacientů s X-vázanou ALD způsobenou patogenními variantami v genu *ABCD1* bylo dosud popsáno celkem 50 rodin (viz Zemanová et al. (2021) 35 rodin a Dvořáková et al. 21 pacientů z 15 rodin (2006)).

Protein ATP-binding cassette sub-family D member 1 a kumulace VLCFA

Gen *ABCD1* kóduje protein ATP-binding cassette sub-family D member 1, který je součástí velké rodiny transmembránových ATP-vázajících proteinů. Ty jsou nezbytné pro transport různých substrátů přes extra i intracelulární membrány. Protein ATP-binding cassette sub-family D member 1 transportuje mastné kyseliny s velmi dlouhým řetězcem (very long-chain fatty acid, VLCFA) z cytosolu do peroxisomů, kde jsou pak VLCFA odbourávány procesem β -oxidace. Jen

minimum VLCFA pochází ze stravy, většina je syntetizována v organismu. Při poruše transmembránového proteinu ATP-binding cassette sub-family D member 1 způsobené mutací v genu *ABCD1* se VLCFA nedostávají do peroxisomů, nejsou odbourávány a dochází k jejich kumulaci v plazmě a v buňkách prakticky všech tkání. U pacientů s X-ALD se jedná zejména o kumulaci kyseliny cerotové (C26:0) (Kemp et al., 2001). Při biochemickém vyšetření hladin VLCFA pro potvrzení diagnózy X-vázané adrenoleukodystrofie jsou zvýšeny tyto tři parametry: 1) koncentrace kyseliny cerotové C26 : 0, 2) poměr kyselin C24 : 0 / C22 : 0 (lignocerová/behenová) a 3) poměr kyselin C26 : 0 / C22 : 0 (cerotová/behenová). Na rozdíl od jiných peroxisomálních onemocnění ale nejsou zvýšeny hladiny jiných mastných kyselin.

Škodlivý vliv kumulace VLCFA se pak nejvíce projevuje ve tkáni mozku, míchy, kůry nadledvin a v Leydigových buňkách. U adrenoleukodystrofie vzniká vlivem kumulovaných VLCFA oxidativní stres spouštějící proces apoptózy v neuronech mozku. Tak dochází k postupné demyelinizaci bílé hmoty, která se postupně šíří. V oblastech, kde zpravidla začíná proces demyelinizace, byla prokázána nejvyšší exprese *ABCD1* genu (Lauer et al., 2017; Powers et al., 1992). U jedinců, kteří nesou patogenní variantu v genu *ABCD1*, proběhne proces myelinizace normálně, co je spouštěčem demyelinizace, není zatím známo. U AMN způsobí kumulace VLCFA také oxidativní stres a poruchu funkce mitochondrií v míšních neuronech, což vede k poruchám axonálního transportu (Wanders, 2014; Fourcade et al., 2008). U většiny mužů a u 80 % žen s AMN jsou postiženy i periferní nervy.

Hromadění VLCFA v kůře nadledvin (konkrétně v zona fasciculata a zona glomerulosa) vede ve výsledku také k buněčné smrti

buněk ve zmíněných oblastech nadledvin, což se projeví sníženou produkcí kortikosteroidních hormonů. Jsou sníženy hladiny kortizolu a aldosteronu, naopak hladiny ACTH (adrenokortikotropního hormonu) v plazmě jsou zvýšeny. Stejně biochemické změny a patologické procesy jako v buňkách kůry nadledvin byly zjištěny i v Leydigových buňkách varlat. Muži proto mohou mít klinické nebo subklinické příznaky hypogonadismu, ačkoliv plodnost může být zachována (Powers et Schaumburg, 1974).

VLCFA jsou zvýšené u většiny mužů a u 80 % žen nesoucích jednu patogenní variantu v genu *ABCD1*. U 20 % žen, které nesou patogenní variantu v genu *ABCD1*, mohou být hladiny VLCFA v plazmě normální (Moser et al., 1999). Genetická diagnostika tak zůstává u těchto 20 % žen jediným diagnostickým nástrojem.

Gen *ABCD1* a dědičnost onemocnění

Gen *ABCD1* je lokalizován na chromozomu X (Xq28), má 10 exonů (kódujících úseků) a kóduje 745 aminokyselin. Gen je evolučně vysoce konzervovaný napříč organismy, dokonce až k rostlinám (Zolman, Silva et Bartel, 2001). Gen *ABCD1* je u člověka exprimován ve všech tkáních. Bylo v něm dosud popsáno 726 patogenních variant všech typů: missense (vedoucí k záměně aminokyseliny v proteinu), nonsense (způsobí předčasné zařazení stop kodonu a předčasné ukončení syntézy proteinu), varianty sestřihové (tzn. splice-site; ovlivňují správný sestřih RNA), byly popsány i malé delece nebo inserce (tzv. frame shift varianty, také způsobí předčasné zařazení stop kodonu a předčasné ukončení syntézy proteinu) a byly popsány i velké delece v genu. U většiny pacientů se vyskytují varianty zděděné od jednoho z rodičů, jen v minimálním počtu (u cca 4,1 %) jsou varianty de novo vzniklé (Wang et al., 2011). Znalost kauzální patogenní varianty v genu *ABCD1* je v rodině velice důležitá pro stanovení rizika rozvoje onemocnění u dalších členů rodiny a genetickou diagnostiku u nich. U jedinců s diagnostikovanou patogenní variantou lze zahájit včasnou léčbu či preventivní opatření. Znalost kauzální varianty dále umožní využít dostupných nástrojů prenatální, případně preimplantační diagnostiky.

Pro gen *ABCD1* platí pravidla X-vázané dědičnosti. Muži s patogenní variantou jsou hemizygoti, neboť mají jen jeden chromozom X,

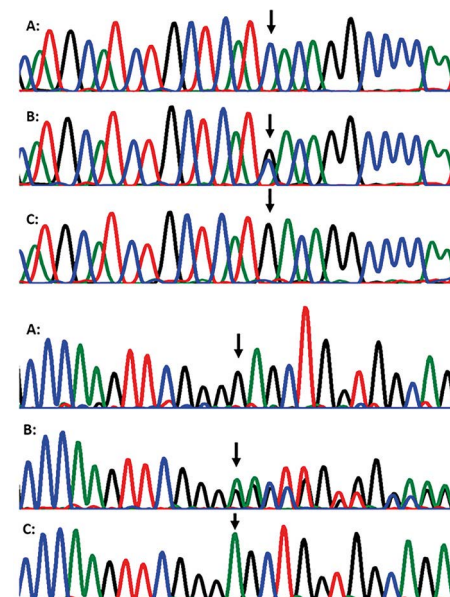
a proto jsou obecně závažněji postiženi než ženy. Ty jsou v naprosté většině heterozygotky, nesou pouze jednu patogenní variantu v genu *ABCD1* na jednom z X chromozomů. Podle genu *ABCD1* na druhém X chromozomu vzniká normálně funkční protein ATP-binding cassette sub-family D member 1, a proto jsou ženy postiženy mírněji. Velice vzácně se může vyskytnout i žena homozygotka se dvěma patogenními variantami v genu *ABCD1* na obou X chromozomech, pokud jsou oba rodiče nosiči nějaké varianty v genu *ABCD1* (HersHKovitz et al., 2002).

Muži s patogenní variantou v genu *ABCD1* předají tuto variantu všem dcerám a žádnému ze svých synů. Všichni synové postiženého muže budou tedy zdraví a nebudou předávat variantu do dalších generací. Všechny dcery postiženého muže budou heterozygotkami, věk nástupu onemocnění u nich bude pozdější a projevy onemocnění mírnější, některé mohou zůstat asymptomatickými po celý život. Ženy heterozygotní nosičky patogenní varianty v genu *ABCD1* předají tuto variantu s 50 % pravděpodobností každému ze svých potomků bez rozdílu pohlaví. U synů, kteří zdědí od matky heterozygotky patogenní variantu, se projeví některý z výše popsaných klinických projevů, věk nástupu a závažnost projevů nelze predikovat. Pro dcery, které zdědí patogenní variantu, platí totéž, co pro dcery postiženého muže.

Možnosti diagnostiky

Kvůli nejednotnosti klinických příznaků může být cesta k definitivní diagnóze dlouhá. Zatímco dětská cerebrální forma bývá rozpoznána časně, pacienti s AMN nebo pacienti s adrenálními projevy mohou být vedeni (i dlouhodobě) pod jinou diagnózou. Jednoznačné potvrzení diagnózy představuje molekulárně genetické vyšetření genu *ABCD1* a nalezení kauzální patogenní varianty (Obr. 3). Gen *ABCD1* je možné vyšetřit klasickým Sangerovým sekvenováním nebo pomocí sekvenování nové generace (tzv. NGS). Gen *ABCD1* by vždy měl být součástí panelu genů spojovaných s hereditárními spastickými paraparézami. Velké delece genu *ABCD1* jsou diagnostikovatelné i z dat NGS, ale lze je také vyšetřit metodou MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification).

Obr. 3. Patogenní varianty v genu *ABCD1* (Sangerovo sekvenování). Nahoře: varianta c.1515C > G, p.(Ile505Met), dole: varianta c.799delG, p.(Glu267Serfs*69). A: zdravý jedinec; B: heterozygotní žena (překrývají se dva signály); C: hemizygotní muž (přítomna pouze jedna alela genu s patogenní variantou; nahoře: záměna C > G, dole: delece jednoho nukleotidu) (modrá: C, černá: G, zelená: A, červená: T)

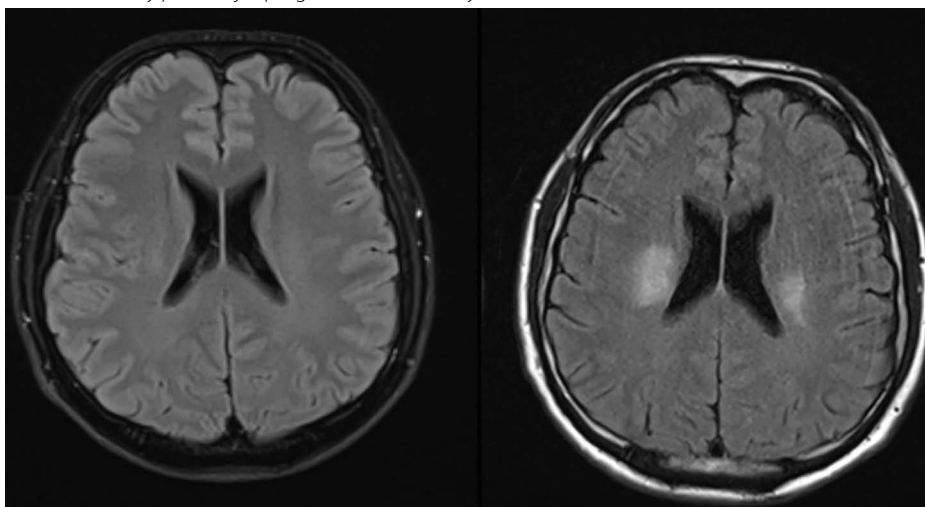


Běžným, rychlým a nejčastěji používaným vyšetřením je biochemické stanovení hladin VLCFA v krevním séru nebo v plazmě. U určitého procenta žen heterozygotek ale může být výsledek falešně negativní (viz výše). Vyšší hladiny VLCFA jsou detekovatelné dokonce i prenatálně v buňkách choriových klků nebo kultivovaných amniocytech plodu, pro prenatální diagnostiku je však třeba potvrdit diagnózu molekulárně geneticky, pokud je známá kauzální mutace v rodině.

Na základě zjištěné hladiny VLCFA nelze predikovat vývoj či rychlost progresu onemocnění. Totéž nelze predikovat ani na základě typu kauzální varianty (ve smyslu missense, frameshift, sestřihová atp.). Stejná kauzální varianta může vést k rozdílným klinickým projevům i v rámci jedné rodiny.

Stanovení hladin VLCFA je široce používaný diagnostický standard, senzitivnější biochemickou diagnostikou je však stanovení plazmatických hladin C26 : 0-lysofosfatidylcholinu (C26 : 0-lysoPC), který je pozitivní i u všech heterozygotních žen (Jaspers et al., 2020; Huffnagel et al., 2017). Tohoto biochemického markeru se též používá v neonatálním screeningu (viz dále) ze suché krevní kapky.

Obr. 4. Opakované MRI pacienta III/4 z rodiny A (viz Tab. 2) s typickým obrazem a zároveň jasnou progresí nálezů; axiální FLAIR sekvence. Vlevo: normální obraz bílé hmoty (rok 2016), vpravo: rozvoj hypersignálních změn bílé hmoty prokazující progresi adrenoleukodystrofie (rok 2022)



Další možností diagnostiky je vyšetření pomocí magnetické rezonance. U cerebrální formy onemocnění je na MRI mozku přítomna symetrická demyelinizace, kdy u 80 % pacientů s ALD začíná v parieto-okcipitální oblasti, u zhruba 20 % ve frontální oblasti nebo oblasti genu corpus callosum (Obr. 1 a 4) (Engelen et al., 2012; van de Stadt et al., 2021). Pro vyjádření míry postižení/rozsahu demyelinizace se používá Loes skóre, které může nabývat hodnot od 0 (normal) až 34 (max) (Loes et al., 1994). Hodnota Loes skóre a rychlost jeho progresu je důležitá při rozhodování v léčbě pomocí transplantace kostní dřeně (viz dále).

Léčba onemocnění

Jedinou efektivní léčbou je transplantace krvetvorných buněk (HSTC hematopoietic stem cells transplantation) u pacientů s cerebrální formou. Transplantace vede k zastavení procesu demyelinizace, je však možné ji provést jen v určité klinické fázi onemocnění. Principem transplantace je, že mikroglie vzniklé z krvetvorných buněk dárce mají normální peroxisomální funkci a jsou schopny degradovat a odstranit VLCFA, a tak zastavit proces demyelinizace. Když je HSTC úspěšná, vede ke stabilizaci lézí bílé hmoty kolem 6–12 měsíců po transplantaci. Během této doby může onemocnění ještě progredovat. HSTC se doporučuje pouze u jedinců s prokázanou aktivní cerebrální chorobou, ideálními kandidáty jsou jedinci s Loes skóre < 10. V této skupině se udává u 91 % pětileté přežití. U jedinců s Loes skóre ≥ 10 je pětileté přežití nižší

62 % (Miller et al., 2011). U pokročilé progresu cerebrálního onemocnění se HSTC nedoporučuje (Mahmood et al., 2007; Raymond et al., 2019; Peters et al., 2004; Eichler et al., 2017).

Protože u velkého procenta chlapců se nerozvine cerebrální forma v dětství, nelze HSTC indikovat u prozatím asymptomatických jedinců (Loes skóre 0). Pravidelná monitorace pomocí MRI je však u takových jedinců klíčová, kvůli včasnému zahájení léčby pomocí HSTC (Engelen et al., 2022). U jedinců diagnostikovaných na základě rozvíjející se cerebrální formy už bývá pro zahájení terapie pomocí HSTC zpravidla pozdě. HSTC se nepoužívá ani u pacientů s AMN a také nevede k nápravě adrenální dysfunkce.

Lorenzův olej (tekutá směs olejů glycerol-trioleát (GTO) a glycerol-trierukát (GTE) v poměru 4:1) spolu s nízkolipidovou dietou je standardně používán jako léčivo pro snížení hladin VLCFA v plazmě u pacientů s ALD i AMN i u asymptomatických jedinců. Nedochozí ale ke snížení VLCFA v postižených tkáních a nezabraňuje tak rozvoji ani progresi již rozvinutých neurologických projevů a nemá vliv ani na adrenální dysfunkci. Pokud už začal proces demyelinizace, uvedená terapie progresi nedokáže zastavit. Dle nejnovějších studií však nejsou ani dostatečná data podporující účinnost Lorenzova oleje obecně (Engelen et al., 2022).

U adrenální dysfunkce je jedinou a zásadní substituční léčba kortikosteroidy. Další symptomatická léčba spočívá v úpravě diety,

dále rehabilitací, fyzioterapií, psychologické a psychiatrické terapie.

Byl pozorován i vliv lovastatinu na snížení hladiny VLCFA, a tedy možný účinek u X-ALD, klinickými studiemi však nebyl později potvrzen terapeutický efekt (Engelen et al., 2010). Možnou léčbou do budoucna by mohl být pioglytazon, léčivo používané již několik let v terapii diabetu 2. typu. U jeho metabolitu leriglitazonu bylo experimentálně dokázáno, že normalizuje hladinu VLCFA, zlepšuje mitochondriální funkce a zmírňuje zánětlivý proces (Monternier et al., 2022). Další možností je genová léčba (elivaldogene autotemcel), která je možností u jedinců, pro které neexistuje vhodný dárce. Genová léčba má dobré krátkodobé výsledky, dlouhodobé zatím nejsou známy (Keam, 2021).

Neonatální screening

V některých zemích je X-ALD testována v rámci novorozeneckého screeningu. Jako první byl zaveden v USA ve státě New York (2013), v roce 2016 byla ALD přidána v USA do obecných doporučení pro novorozenecký screening. Dnes je v USA X-ALD součástí novorozeneckého screeningu ve více než 30 státech a mimo USA dále na Taiwanu, pilotní studie probíhá v Japonsku a v Itálii, o screeningu u novorozeneckých chlapců se diskutuje v Nizozemí (podrobněji <https://adrenoleukodystrophy.info>).

Závěr

X-vázaná adrenoleukodystrofie je závažné onemocnění s nepříznivou prognózou. Spektrum klinických projevů této nemoci je široké a nejednotné a spastická paraparéza může být i ve více generacích jediným klinickým projevem. Reportujeme čtyři české rodiny, ve kterých byla spastická paraparéza některého z členů rodiny prvním vodítkem k určení správné diagnózy. Počet takových rodin ale bude spíše vyšší a skutečný počet pacientů a rodin bude nejen u nás pravděpodobně poddiagnostikovaný. Pokud se v rodině vyskytuje X-vázaná spastická paraparéza, je třeba myslet na diagnózu X-vázané adrenoleukodystrofie a u pacientů provést cílené vyšetření genu *ABCD1* a zkontrolovat hladiny VLCFA v plazmě.

Podpořeno grantem Ministerstva zdravotnictví České republiky AZV NU22-04-00097.

LITERATURA

1. Bezman L, Moser AB, Raymond GV, et al. Adrenoleukodystrophy: incidence, new mutation rate, and results of extended family screening. *Ann Neurol.* 2001;49:512-517.
2. Blevins LS, Jr., Shankroff J, Moser HW, et al. Elevated plasma adrenocorticotropin concentration as evidence of limited adrenocortical reserve in patients with adrenomyeloneuropathy. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994;78:261-265.
3. Di Rocco M, Doria-Lamba L, Caruso U. Monozygotic twins with X-linked adrenoleukodystrophy and different phenotypes. *Ann Neurol.* 2001;50:424.
4. Dubey P, Raymond GV, Moser AB, et al. Adrenal insufficiency in asymptomatic adrenoleukodystrophy patients identified by very long-chain fatty acid screening. *J Pediatr.* 2005;146:528-532.
5. Dvorakova L, Hrebicek M, Jahnova H, et al. X-linked adrenoleukodystrophy in twenty one Czech patients. *Ces-slov Pediatr.* 2006;61(3):129-136.
6. Eichler F, Duncan C, Musolino PL, et al. Hematopoietic Stem-Cell Gene Therapy for Cerebral Adrenoleukodystrophy. *N Engl J Med.* 2017;377:1630-1638.
7. Engelen M, Barbier M, Dijkstra IM, et al. X-linked adrenoleukodystrophy in women: a cross-sectional cohort study. *Brain.* 2014;137:693-706.
8. 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.
9. Engelen M, Ofman R, Dijkgraaf MG, et al. Lovastatin in X-linked adrenoleukodystrophy. *N Engl J Med.* 2010;362:276-277.
10. Engelen M, van Ballegoij WJC, Mallack EJ, et al. International Recommendations for the Diagnosis and Management of Patients With Adrenoleukodystrophy: A Consensus-Based Approach. *Neurology.* 2022;99:940-951.
11. Fanen P, Guidoux S, Sarde CO, et al. Identification of mutations in the putative ATP-binding domain of the adrenoleukodystrophy gene. *J Clin Invest.* 1994;94:516-520.
12. Fatemi A, Barker PB, Ulug AM, et al. MRI and proton MRSI in women heterozygous for X-linked adrenoleukodystrophy. *Neurology.* 2003;60:1301-1307.
13. Fourcade S, Lopez-Erasquin J, Galino J, et al. Early oxidative damage underlying neurodegeneration in X-adrenoleukodystrophy. *Hum Mol Genet.* 2008;17:1762-1773.
14. Guettches AK, Kuechler A, Gal A, et al. Female carriers of X-chromosomal adrenoleukodystrophy: a major differential diagnosis in progressive myelopathy. *J Neurol.* 2010;257:1394-1395.
15. Hershkovitz E, Narkis G, Shorer Z, et al. Cerebral X-linked adrenoleukodystrophy in a girl with Xq27-Ter deletion. *Ann Neurol.* 2002;52:234-237.
16. Huffnagel IC, Dijkgraaf MGW, Janssens GE, et al. Disease progression in women with X-linked adrenoleukodystrophy is slow. *Orphanet J Rare Dis.* 2019;14:30.
17. Huffnagel IC, Laheji FK, Aziz-Bose R, et al. The Natural History of Adrenal Insufficiency in X-Linked Adrenoleukodystrophy: An International Collaboration. *J Clin Endocrinol Metab.* 2019;104:118-126.
18. Huffnagel IC, van de Beek MC, Showers AL, et al. Comparison of C26:0-carnitine and C26:0-lysophosphatidylcholine as diagnostic markers in dried blood spots from newborns and patients with adrenoleukodystrophy. *Mol Genet Metab.* 2017;122:209-215.
19. Jaspers YRJ, Ferdinandusse S, Dijkstra IME, et al. Comparison of the Diagnostic Performance of C26:0-Lysophosphatidylcholine and Very Long-Chain Fatty Acids Analysis for Peroxisomal Disorders. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:690.
20. Kean SJ. Elivaldogene Autotemcel: First Approval. *Mol Diagn Ther.* 2021;25:803-809.
21. Kemp S, Berger J, Aubourg P. X-linked adrenoleukodystrophy: clinical, metabolic, genetic and pathophysiological aspects. *Biochim Biophys Acta.* 2012;1822:1465-1474.
22. Kemp S, Huffnagel IC, Linthorst GE, et al. Adrenoleukodystrophy - neuroendocrine pathogenesis and redefinition of natural history. *Nat Rev Endocrinol.* 2016;12:606-615.
23. Kemp S, Pujol A, Waterham HR, et al. ABCD1 mutations and the X-linked adrenoleukodystrophy mutation database: role in diagnosis and clinical correlations. *Hum Mutat.* 2001;18:499-515.
24. Korenke GC, Fuchs S, Krasemann E, et al. Cerebral adrenoleukodystrophy (ALD) in only one of monozygotic twins with an identical ALD genotype. *Ann Neurol.* 1996;40:254-257.
25. Krasemann EW, Meier V, Korenke GC, et al. Identification of mutations in the ALD-gene of 20 families with adrenoleukodystrophy/adrenomyeloneuropathy. *Hum Genet.* 1996;97:194-197.
26. Lauer A, Da X, Hansen MB, et al. ABCD1 dysfunction alters white matter microvascular perfusion. *Brain.* 2017;140:3139-3152.
27. Loes DJ, Hite S, Moser H, et al. Adrenoleukodystrophy: a scoring method for brain MR observations. *AJNR Am J Neuroradiol.* 1994;15:1761-1766.
28. Mahmood A, Dubey P, Moser HW, et al. X-linked adrenoleukodystrophy: therapeutic approaches to distinct phenotypes. *Pediatr Transplant.* 2005;9(Suppl. 7):55-62.
29. Mahmood A, Raymond GV, Dubey P, et al. Survival analysis of haematopoietic cell transplantation for childhood cerebral X-linked adrenoleukodystrophy: a comparison study. *Lancet Neurol.* 2007;6:687-692.
30. Monternier PA, Singh J, Parasar P, et al. Therapeutic potential of deuterium-stabilized (R)-pioglitazone-PXL065 for X-linked adrenoleukodystrophy. *J Inherit Metab Dis.* 2022;45:832-847.
31. Moser AB, Kreiter N, Bezman L, et al. Plasma very long chain fatty acids in 3,000 peroxisome disease patients and 29,000 controls. *Ann Neurol.* 1999;45:100-110.
32. Moser HW, Mahmood A, Raymond GV. X-linked adrenoleukodystrophy. *Nat Clin Pract Neurol.* 2007;3:140-151.
33. Moser HW, Raymond GV, Dubey P. Adrenoleukodystrophy: new approaches to a neurodegenerative disease. *JAMA.* 2005;294:3131-3134.
34. 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;118:1971-1978.
35. Peters C, Charnas LR, Tan Y, et al. Cerebral X-linked adrenoleukodystrophy: the international hematopoietic cell transplantation experience from 1982 to 1999. *Blood.* 2004;104:881-888.
36. Powers JM, Liu Y, Moser AB, et al. The inflammatory myelinopathy of adreno-leukodystrophy: cells, effector molecules, and pathogenetic implications. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1992;51:630-643.
37. Powers JM, Schaumburg HH. Adreno-leukodystrophy. Similar ultrastructural changes in adrenal cortical and Schwann cells. *Arch Neurol.* 1974;30:406-408.
38. Raymond GV, Aubourg P, Paker A, et al. Survival and Functional Outcomes in Boys with Cerebral Adrenoleukodystrophy with and without Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2019;25:538-548.
39. Raymond GV, Jones RO, Moser AB. Newborn screening for adrenoleukodystrophy: implications for therapy. *Mol Diagn Ther.* 2007;11:381-384.
40. Turk BR, Theda C, Fatemi A, et al. X-linked adrenoleukodystrophy: Pathology, pathophysiology, diagnostic testing, newborn screening and therapies. *Int J Dev Neurosci.* 2020;80:52-72.
41. van de Stadt SIW, Huffnagel IC, Turk BR, et al. Imaging in X-Linked Adrenoleukodystrophy. *Neuropediatrics.* 2021;52:252-260.
42. van Geel BM, Bezman L, Loes DJ, et al. Evolution of phenotypes in adult male patients with X-linked adrenoleukodystrophy. *Ann Neurol.* 2001;49:186-194.
43. van Geel BM, Koelman JH, Barth PG, et al. Peripheral nerve abnormalities in adrenomyeloneuropathy: a clinical and electrodiagnostic study. *Neurology.* 1996; 46: 112-118.
44. Wanders RJ. Metabolic functions of peroxisomes in health and disease. *Biochimie.* 2014;98:36-44.
45. Wang Y, Busin R, Reeves C, et al. X-linked adrenoleukodystrophy: ABCD1 de novo mutations and mosaicism. *Mol Genet Metab.* 2011;104:160-166.
46. Zemanova M, Chrastina P, Dvorakova L, et al. X-linked adrenoleukodystrophy: phenotype-genotype correlation in hemizygous males and heterozygous females with ABCD1 mutations. *Neuro Endocrinol Lett.* 2021;42:359-367.
47. Zolman BK, Silva ID, Bartel B. The Arabidopsis pxa1 mutant is defective in an ATP-binding cassette transporter-like protein required for peroxisomal fatty acid beta-oxidation. *Plant Physiol.* 2001;127:1266-1278.