

University of Groningen

Tyrosinemia type 1

van Ginkel, Wiggert

DOI:
[10.33612/diss.137426908](https://doi.org/10.33612/diss.137426908)

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version
Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:
2020

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):
van Ginkel, W. (2020). *Tyrosinemia type 1: Remaining challenges after introduction of NTBC*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. University of Groningen. <https://doi.org/10.33612/diss.137426908>

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

7

CHAPTER

Appendices

English summary

Dutch summary (Nederlandse samenvatting)

Abbreviations

Acknowledgements (Dankwoord)

About the author

List of publication

Summary

Tyrosinemia type 1 (TT1) is an inherited disorder of tyrosine metabolism. The deficiency of the enzyme fumarylacetoacetate hydrolase among others results in severe liver failure, neurological symptoms and hepatocellular carcinoma. Since the introduction of 2-(2-nitro-4-trifluoromethylbenoyl)-1,3-cyclohexanedione (NTBC), outcome has improved tremendously. At the same time, many questions remain unanswered. The aim of this thesis was to investigate some of the remaining challenges, including (1) the risk for long term liver problems, (2) the neuropsychological problems that have recently been observed and (3) ways to improve metabolic control monitoring.

How to monitor the risk of hepatocellular carcinoma (HCC) development?

The case we presented in **Chapter 2a** was the first reported case in which (early) HCC was detected without increase in AFP nor lesions at imaging that were clearly indicative of HCC. We therefore concluded that a new lesion at imaging is highly suggestive of HCC in TT1 patients. Due to the increased risk of HCC development, the current recommendation is to screen every TT1 patient regularly with liver imaging for HCC development. However, especially patients who started late with NTBC, have α -1-fetoprotein (AFP) concentrations that fail to normalize within 1-2 years, or show a lesion on imaging, have repeatedly shown to be susceptible for HCC (as the patient presented in **Chapter 2a**). This is in contrast to patients who are pre-clinically diagnosed and treated, since no liver cancer has been reported in these patients. Therefore, in **Chapter 6** we propose to adjust the screening protocol based on individual patient characteristics and risk factors. We think screening in low risk patients can be done with AFP alone, while liver imaging remains necessary in patients with a higher risk of HCC. In this way, unnecessary liver imaging can be prevented in so called low-risk patients.

Sub-optimal NTBC treatment, which could be defined as a particular NTBC treatment strategy without normalization of succinylacetone (SA) concentrations, is considered to be another risk factor for HCC development. Due to the long half time of blood SA and the clear improvement in sensitivity

of blood SA measurements, blood SA is very suitable for treatment monitoring and preferred above urinary SA. The diurnal and daily variation of blood NTBC and SA concentrations were studied in 18 TT1 patients in **Chapter 2b**. In this chapter, we demonstrated that increased SA concentrations are frequently found in TT1 patients, which could increase their risk for HCC development. Due to the clear correlation between NTBC and SA concentrations, a higher NTBC dose would probably be effective to prevent increased SA concentrations. Alternatively, changing a single dosing strategy to twice daily NTBC might be helpful has been shown in **Chapter 2b**.

What is the cognitive-behavioral phenotype of TT1 patients and which factors contribute the cognitive dysfunction that has been reported?

In **Chapter 3**, we demonstrated in a relatively large prospective study that TT1 patients are at risk for a non-optimal neuropsychological and behavioral outcome. This research showed that apart from IQ, a broad range of neurocognitive and behavioral problems was observed in NTBC and dietary treated TT1 patients. Differences in neurocognitive outcome are not only found between TT1 patients and age and gender matched controls, but between TT1 patients and PKU patients as well. These deficiencies are especially apparent when multiple cognitive abilities are required at the same time. Regarding behavior, both internalizing and externalizing behavioral problems have been observed, although attention problems were the most striking with about half of the TT1 patients scoring in the clinical range. All these neurocognitive and behavioral problems could have an effect on the reported quality of life as has been shown in **Chapter 3b**.

Interestingly, a clear interindividual variation in the cognitive-behavioral profile is seen, leaving the question why some TT1 patients are prone for neuropsychological and behavioral problems while others are not. **Chapter 3b** showed some indications that low plasma phenylalanine concentrations in early life and high tyrosine concentrations throughout life could have a negative effect on the cognitive-behavioral outcome of TT1 patients, which could be explained by the pathophysiological mechanisms investigated in **Chapter 4**. The theoretical calculations and research in TT1 mice in **Chapter 4** showed

that high plasma tyrosine concentrations lead to (1) high brain tyrosine concentrations, (2) outcompete the brain influx of other large neutral amino acids, especially phenylalanine since plasma phenylalanine concentrations are already low and (3) could result in changes in neurotransmitter concentrations.

How to improve metabolic control monitoring?

Frequent monitoring of plasma phenylalanine and tyrosine concentrations is considered crucial for the considered effects on the neuropsychological and behavioral outcome as explained above. Although home monitoring is frequently done with dried blood spots (DBS), its validity is of ongoing debate. **Chapter 5a** investigated the agreement between phenylalanine and tyrosine concentrations as measured using different types of blood sampling. It was shown that both DBS and plasma phenylalanine and tyrosine concentrations can be made comparable by using a lab specific correction factor. Still, adequate measurement of phenylalanine concentrations below normal remain a challenge.

These low phenylalanine concentrations are frequently seen in TT1 patients, especially during the afternoon. To prevent these low phenylalanine concentrations, phenylalanine supplementation is sometimes given without precise understanding of its effect on phenylalanine and tyrosine concentrations. Therefore, the effect of different amounts of extra phenylalanine was investigated in **Chapter 5b**. We illustrated that a 20mg/kg/day of extra phenylalanine could prevent most of the low phenylalanine concentrations without increasing tyrosine concentrations too much. In this way, phenylalanine supplementation can be helpful in day-to-day treatment of TT1. This research also showed that to evaluate phenylalanine concentrations adequately, phenylalanine concentrations should be measured before lunch instead of before breakfast which is normally done.

Finally, the studies as presented in this thesis are discussed and placed in a broader perspective in **Chapter 6**. This chapter also provides challenges and opportunities for further research.

Dutch Summary (Nederlandse samenvatting)

Tyrosinemie type 1 (TT1) is een erfelijke stofwisselingsziekte waarbij een specifieke bouwsteen van eiwitten, namelijk het aminozuur tyrosine, niet goed afgebroken kan worden. Door dit defect hopen schadelijke producten zich in verschillende delen van het lichaam op, waardoor onder andere ernstig leverfalen, leverkanker en neurologische klachten ontstaan. Sinds de introductie van het medicament 2-(2-nitro-4-trifluoromethylbenoyl)-1,3-cyclohexanedione (NTBC) zijn de uitkomsten verbeterd en is de levensverwachting duidelijk toegenomen. Aangezien NTBC zorgt voor een sterke stijging van de tyrosine concentraties, dient de behandeling met NTBC gecombineerd te worden met een zeer strikt eiwitbeperkt dieet, waarbij alle aminozuren met uitzondering van tyrosine en fenylalanine (voorloper van tyrosine) vervolgens gesuppleerd worden.

Ondanks de behandeling met NTBC en dieet bestaan er nog verschillende uitdagingen. Het doel van dit proefschrift was om de volgende uitdagingen te onderzoeken: (1) het persisterende risico op leverproblemen, (2) de neuropsychologische problemen die de laatste jaren gerapporteerd zijn en (3) de verschillende manieren om de metabole controle te verbeteren.

Hoe dient het risico op leverkanker gemonitord te worden?

Dankzij de behandeling met NTBC is het risico op leverkanker weliswaar afgenomen, maar desalniettemin is het risico is nog steeds hoger dan in de algemene populatie. Daarom wordt momenteel bij alle TT1 patiënten regelmatig gecontroleerd of er leverkanker in wording is. Dit wordt gedaan door in het bloed de tumormarker α -1-fetoproteïne (AFP) te bepalen en beeldvorming van de lever te verrichten middels echo, CT- of MRI-scan.

In **hoofdstuk 2a** presenteerden wij een casus waarin met behulp van beeldvorming nieuwe afwijkingen in de lever gevonden werden. Dit waren afwijkingen die niet verdacht waren voor leverkanker. Daarnaast was er (nog) geen sprake van een stijging in AFP concentraties. Desalniettemin bleek er bij pathologisch onderzoek sprake te zijn van leverkanker. Daaruit concludeerden wij dat een nieuwe afwijking op beeldvorming bij TT1 patiënten beschouwd moet worden als leverkanker totdat het tegendeel bewezen is.

De ziekte TT1 werd bij deze patiënt vastgesteld in het ziekenhuis toen er sprake was van acuut leverfalen. Pas daarna werd NTBC gestart. De AFP concentraties daalden langzaam en waren na 2 jaar nog niet binnen de normaalwaarden en tot slot waren er bij deze patiënt nieuwe afwijkingen op beeldvorming gezien. Vooral patiënten met één of meerdere van deze bovengenoemde factoren hebben een verhoogd risico op leverkanker. Dit is in tegenstelling tot patiënten die direct na de geboorte gediagnosticeerd en behandeld worden. In deze patiënten is namelijk nog nooit leverkanker gerapporteerd. Daarom stellen wij in **hoofdstuk 6** van dit proefschrift voor dat de te verrichten controles aangepast moeten worden aan individuele patiëntkarakteristieken en risicofactoren. Wij denken dat voor laag-risico-patiënten kan worden volstaan met regelmatige controle van AFP concentraties en dat routinematige beeldvorming van de lever in deze laag risico patiënten niet nodig is.

Naast de hiervoor benoemde risicofactoren voor leverkanker, wordt suboptimale behandeling met NTBC als een risicofactor beschouwd. Suboptimale NTBC behandeling kan worden gedefinieerd als een bepaalde NTBC dosering waarbij nog steeds verhoogde concentraties van succinylaceton (SA) gevonden worden. SA is een afgeleide van de verschillende stoffen die ophopen bij TT1 en schadelijke zijn voor de lever. Door de lange halfwaardetijd en de verbeterde laboratorium technieken is bloed SA een goede maat voor het monitoren van de behandeling. In **hoofdstuk 2b** werd de variatie van bloed SA en NTBC concentraties binnen één dag en tussen verschillende dagen onderzocht. Hieruit bleek dat verhoogde bloed SA concentraties toch nog relatief vaak gevonden worden, met name bij patiënten die NTBC als één gift per dag innemen. Daarom concludeerden wij dat het verdelen van de dagelijkse hoeveelheid NTBC over 2 giften per dag nuttig kan zijn voor het voorkomen van verhoogde SA concentraties.

Wat is het cognitief-gedragsprofiel van TT1 patiënten en welke factoren dragen bij aan hun suboptimale cognitieve ontwikkeling?

In **hoofdstuk 3** zijn de resultaten gepubliceerd van een relatief grote internationale studie, waarbij niet alleen intelligentie, maar ook hogere hersenfuncties zoals executief functioneren en sociale cognitie, gedrag en

kwiteit van leven van TT1 patiënten onderzocht werden. De uitkomsten van de TT1 patiënten werden vergeleken met de uitkomsten van op leeftijd en geslacht gekoppelde controlepersonen en met patiënten met phenylketonurie (een andere stofwisselingsziekte met een aantal vergelijkbare kenmerken). Uit het onderzoek bleek dat TT1 patiënten een verhoogd risico hebben op suboptimale neuropsychologische uitkomsten. Daarnaast komen gedragsproblemen vaak voor, waarbij met name aandachtsproblemen opvielen. Deze problemen zouden gerelateerd kunnen zijn aan de lagere kwaliteit van leven die gerapporteerd is in **hoofdstuk 3b**.

Hoewel wij bovenstaande conclusies konden trekken, bestaan er grote verschillen tussen de TT1 patiënten. Bij sommige patiënten is er sprake van suboptimale cognitieve uitkomsten, terwijl andere patiënten normale scores behaalden. **Hoofdstuk 3b** laat zien dat met name lage fenylalanine concentraties in de eerste levensjaren en hoge tyrosine concentraties op latere leeftijd geassocieerd zijn met gedragsproblemen. Dit zou een verklaring kunnen zijn voor het verschil tussen de TT1 patiënten. Daarom hebben we in **hoofdstuk 4** deze verschillende pathofysiologische mechanismes verder onderzocht. Hiervoor hebben we gebruik gemaakt van een theoretisch model dat de instroom van aminozuren zoals tyrosine en fenylalanine van het bloed naar de hersenen schat. Met behulp van dit model hebben wij een studie met TT1 muizen verricht waarin wij bloed en brein aminozuren en brein neurotransmitter concentraties gemeten hebben. Deze studies in **hoofdstuk 4** lieten zien dat de hoge bloed tyrosine concentraties kunnen leiden tot (1) hoge tyrosine concentraties in het brein, (2) lagere concentraties van andere aminozuren in het brein, met name van fenylalanine en (3) veranderingen in neurotransmitter concentraties.

Hoe kan metabole controle beter gemonitord worden?

Door het verwachte negatieve effect van lage fenylalanine en hoge tyrosine concentraties op neuropsychologische uitkomsten is frequente controle van bloed fenylalanine en tyrosine concentraties noodzakelijk. Ondanks dat deze controles reeds enkele jaren voornamelijk thuis uitgevoerd wordt middels bloedspots, is de betrouwbaarheid van bloedspot analyses nog steeds onderwerp van discussie. In **hoofdstuk 5a** hebben wij de overeenkomst

tussen verschillende manieren van bloedafname met elkaar vergeleken. De resultaten van deze studie toonden aan dat bloedspot fenylalanine en tyrosine concentraties goed vergelijkbaar kunnen worden gemaakt met de concentraties die gemeten worden in plasma. Daarbij is het wel belangrijk dat er een goede lab-specifieke correctie factor wordt gebruikt. Desalniettemin blijft nauwkeurige meting van te lage fenylalanine concentraties (lager dan normaal) een uitdaging.

Deze te lage fenylalanine concentraties worden vaak gezien in TT1 patiënten en wel met name gedurende de middag. Om deze lage fenylalanine concentraties te voorkomen kan men de eiwit inname verhogen. Een nadeel hiervan is dat de inname van tyrosine dan ook hoger wordt. Als alternatief wordt daarom ook wel extra fenylalanine gegeven. Omdat niet bekend is wat het effect van deze extra fenylalanine is op de fenylalanine en tyrosine concentraties hebben wij dit onderzocht in **hoofdstuk 5b**. De resultaten toonden aan dat een kleine hoeveelheid extra fenylalanine een groot percentage van de lage fenylalanine concentraties kan voorkomen, zonder dat leidt tot hoge tyrosine concentraties. Op deze manier kan fenylalanine suppletie een waardevolle toevoeging zijn aan de dietbehandeling van TT1 patiënten. Daarnaast bleek uit deze studie dat een mogelijk tekort aan fenylalanine beter onderzocht kan worden middels een bloedafname voor de lunch dan middels de gebruikelijke bloedafname voor het ontbijt.

Tot slot zijn de verschillende studies verder toegelicht en in breder perspectief geplaatst in **hoofdstuk 6**. In dit hoofdstuk worden ook mogelijkheden voor verder onderzoek besproken.

Abbreviations

5-ALA	Delta-aminolevulinic acid
5-HIAA	5-hydroxyindoleacetic acid
ASEBA	Achenbach System of Empirically Based Assessment
ASR	Adult Self Report
BBB	Blood-brain barrier
BH ₄	Tetrahydrobiopterin
BRIEF(-A)	Behavior Rating Inventory of Executive Functioning (-Adults)
CRF	Cerebral spinal fluid
CBCL	Child Behavior Checklist
DBS	Dried blood spots
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders IV
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
EF	Executive function(s)
EPM	Elevated Plus Maze
FA4L	Focused Attention 4 Letters
FAA	Fumarylacetoacetate
FAH	Fumarylacetoacetate hydrolase
FI	Feature Identification
FR	Face Recognition
FST	Forced Swim Test
HCC	Hepatocellular carcinoma
4HPPD	4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase
HR-QoL	Health-Related Quality of Life
IFE	Identification of Facial Emotions
LAT1	L-type amino acid transporter
LH	Lithium heparin
LNAA	Large neutral amino acids

MRI	Magnetic resonance imaging
MS2D	Memory Search 2D Objects
MSUD	Maple Syrup Urine Disease
NOR	Novel Object Recognition
NTBC	2-(2-nitro-4-trifluoromethylbenoyl)-1,3-cyclohexanedione
OF	Open Field
OLT	orthotopic liver transplantation
Phe	Phenylalanine
Phe/tyr ratio	Phenylalanine/tyrosine ratio
PKU	Phenylketonuria
RT	Reaction time
SA	Succinylacetone
SSC-SR	Novotni social skills checklist – self report
SSV	Shifting Attentional Set-Visual
SSRS	Social Skills Rating System
TAAQOL	TNO AZL Adult's Quality Of Life
TACQOL	TNO AZL Children's Quality Of Life
TT1	Tyrosinemia Type 1
Tyr	Tyrosine
WAIS	Wechsler Adult Intelligence Scale Thrid Edition
WISC	Wechsler Intelligence Scale for Children Third or Fourth Edition
YSR	Youth Self Report
WT	Wild-type

Acknowledgements (Dankwoord)

Misschien is het niet de meest logische volgorde, maar bij het lezen van een proefschrift begin ik zelf vaak achteraan: bij het dankwoord. Het is leuk om te lezen, met begrijpelijke taal en natuurlijk de laatste horde voordat je echt kan zeggen: “Mijn proefschrift is helemaal af.”. Dit proefschrift was er echter niet geweest zonder de hulp van veel verschillende mensen. Allen gepassioneerd, enthousiast en gedreven om mij verder te helpen. Ik wil dan ook graag van de gelegenheid gebruik maken om deze mensen te bedanken.

Het doel van dit proefschrift was om te onderzoeken of de zorg voor patiënten met Tyrosinemie Type 1 verbeterd kan worden. Daarom wil ik allereerst de volwassenen, kinderen en ouders bedanken die deelgenomen hebben aan de verschillende onderzoeken. In veel gevallen was dit zelfs deelname aan meer dan één onderzoek! Zonder jullie was de totstandkoming van dit proefschrift onmogelijk geweest.

Beste Prof. Dr. F. J. van Spronsen, beste Francjan, ik weet nog goed dat ik voor het eerst een afspraak met jou had. Ik was in de veronderstelling dat ik als 3e jaars geneeskundestudent een van jouw PhD studenten zou helpen met haar onderzoek naar PKU. Jij had echter andere plannen en vertelde dat er ook mogelijkheden waren om onderzoek te doen naar Tyrosinemie. Ik knikte braaf, vond het heel interessant, maar eerlijkheidshalve gebied mij te zeggen dat ik nog nooit van Tyrosinemie had gehoord. Jouw passie werkte echter aanstekelijk. Jij stimuleerde mij om verder te denken, gaf mij de vrijheid om verschillende projecten op te starten en het op mijn eigen manier in te richten. Al mijn enthousiasme en creativiteit kon ik kwijt in de verschillende onderzoeken die wij gedaan hebben. Bedankt voor je voortreffelijke begeleiding.

Beste Prof. Dr. E.A. van der Zee, beste Eddy, optimistisch, zo noemde jij het plan om tijdens mijn PhD drie artikelen over de Tyrosinemie muizen te publiceren. Je had gelijk. Het bleek inderdaad lastiger dan verwacht om een nieuwe muizenlijn naar Groningen te halen, de fok op te zetten en de verschillende onderzoeken uit te voeren. Gelukkig hebben we wel één artikel kunnen publiceren en zijn er nog veel ideeën voor komende studies. Bedankt

voor het opnemen van mij als nieuwkomer in jullie onderzoeksgroep op het Zernike.

Beste Dr. S.C.J. Huijbregts, beste Stephan, al vrij snel nadat ik bij Francjan had aangeklopt werd ik betrokken bij het onderzoek van Rianne. Neuropsychologisch onderzoek was tot dan toe een ver-van-mijn-bed-show. Af en toe moest jij mij uitleggen dat niet alle uitkomstmaten neurocognitie kunnen worden genoemd. Met veel plezier denk ik terug aan de congressen die we bezocht hebben. Bedankt voor de theoretische discussies die we hadden, welke altijd krachtig, fair en ontzettend waardevol waren.

Dear Prof. Dr. C.O. Harding, dear Cary, your passion to improve the treatment of metabolic disorders is unprecedented. The way you manage the Harding lab, your great number of studies and above all your creativity are truly inspiring. Thank you for your guidance and support during my stay at OHSU. Dear Shelley, Sandy, Daelyn, Garren, Melanie, Tiffany and Lori, thank you for your help in the lab, your hospitality and for showing me around. I know I didn't perform well at the pub quiz, but hopefully you'll give me a second chance. You all made my stay in Portland unforgettable.

Dear Prof. Dr. A. MacDonald and Ms A. Daly, Dear Anita and Anne, your help with the clinical studies was astonishing. I've never been more surprised than when I arrived in Birmingham for the first time. Anita, you did move heaven and earth to arrange that we got permission to do the study and Anne, you managed to recruit all the participants with and without Tyrosinemia in less than two weeks. You've been involved in many of the published articles, thank you for your help.

Dear members of the reading committee, Prof. Dr. F. Kuipers, Prof. Dr. J.J. van der Meere, Prof. Dr. C. Dionisi-Vici., thank you for reading and critically reviewing my thesis.

To all co-authors, thank you for your help with the different studies. The collaboration and your valuable suggestions significantly improved the content of this thesis.

Beste Dr. M.R. Heiner-Fokkema, Beste Rebecca, bedankt voor jouw enthousiasme, uitleg over de verschillende technieken en bepalingen in het

lab (die je bij mij helaas wel enkele keren moest herhalen) en bovenal het meedenken tijdens het onderzoek. Beste analisten, Martijn, Hermi, Hillie en met name Pim en Jennifer, bedankt voor jullie hulp tijdens de verschillende onderzoeken. Het leek af en toe vast of er geen einde aan de stroom met bloedspots zou komen!

Voordat ik in het UMCG op het lab aan de slag ging had ik al enige ervaring op het Zernike op gedaan. Ik begon echter bij jullie op het Zernike toen ik nog nooit een pipet had vastgehad en nog nooit een muis had aangeraakt. Wanda, Kunja en Jan bedankt voor jullie begeleiding, het meedenken en jullie geduld! Alle diervverzorgers wil ik ook graag bedanken. De Tyrosinemie muizen waren niet de makkelijkste muizen om te fokken. Het NTBC water lekte regelmatig uit de flessen en moest vaak worden vervangen, desondanks liep alles meestal vlekkeloos.

Beste collega's van de diëtetiek, met name Esther en Iris, bedankt voor jullie hulp en uitleg bij de fenylalanine suppletie studie. Ik heb veel van jullie geleerd over de dieetbehandeling van verschillende stofwisselingsziektes.

Beste Elma en Georgette, jullie moeten af en toe wel gedacht hebben: komt hij weer met het verzoek voor een last minute meeting. Bedankt voor jullie hulp en flexibiliteit.

Tijdens het onderzoek heb ik veel steun gehad van alle collega's. Collega's die af en toe mee konden denken en met wie ik ook lekker kon klagen over van alles en nog wat als het een keer tegen zat. Ik heb het geluk gehad veel collega PhD'ers te ontmoeten, zowel in het UMCG als op het Zernike. Karen, hoewel ik niet veel met jou heb samengewerkt, kwam ik voor het eerst in aanraking met onderzoek tijdens een gesprek met jou. Bedankt dat jij mij toen geënthousiasmeerd hebt! Rianne en Danique, jullie wil ik in het bijzonder bedanken. Jullie hebben me op sleeptouw genomen, mij geleerd waarom neurocognitief onderzoek meer is dan vragenlijsten en testjes op een computer, hoe structuur te creëren in de warboel van mijn gedachten en samen hebben we verschillende artikelen gepubliceerd. Kimber, eerst hielp jij mij en Rianne met het neurocognitief onderzoek. De laatste maanden waren de rollen omgedraaid en werd jij de kartrekker. Fantastisch dat jij het onderzoek naar Tyrosinemie doorzet! Irene, Willemijn, Esther, Iris, Fabian,

Roeland en Emmalie, bedankt voor de gezelligheid, uren lang thee drinken en koekjes. Sorry dat mijn bureau altijd een (geordende) chaos was.

Met name in het eerste gedeelte van mijn PhD heb ik veel tijd op het Zernike doorgebracht. Els, veel credits gaan naar jou. Jij moest uitvogelen hoe je NTBC moest oplossen, je hebt veel gedragstesten aan me uitgelegd en mij gered me als ik mijzelf in het weekend weer eens uit het lab buitengesloten had. Ook alle anderen, in het bijzonder Vibeke, Priscilla, Doortje, Peter, Frank, Marelle, Iris en Youri, bedankt voor de kopjes koffie, het darten en de gezelligheid. Ik was niet bekend op het Zernike en wist niet hoe alles werkte, maar door jullie werd ik snel in de groep opgenomen. Mijn naam stond zelfs op de deur van de PhD kamer. Door jullie allen heb ik mij als UMCG'er erg op mijn plek gevoeld op het Zernike.

Matheus (I'm sure you remember some Dutch vocabulary), Nienke en Hannah en recent ook nog Allysa, Iris en Luna, ik heb het ontzettend leuk gevonden om jullie te mogen begeleiden. Jullie hielden mij scherp met vernieuwende vragen, hebben mij veel werk uit handen genomen en hebben daarmee een grote bijdrage geleverd aan dit proefschrift. Bedankt voor de hulp en de gezelligheid! Jullie hebben mijn PhD veel waardevoller gemaakt.

Lieve vrienden van Paintballs, groep Vodka, Besties, Kernfractie, Co & Collective en summerschool, zonder dat jullie het misschien doorhadden hebben jullie een grote rol in mijn promotietraject gehad. Jullie zorgden er tijdens onze vakanties, weekendjes weg, kerstdiners en andere activiteiten voor dat ik het onderzoek even helemaal kon vergeten. Tjerk en Nynke, het is toch gebeurd: vrijwel tegelijk aan een PhD beginnen en het ook haast tegelijk afronden. Er zijn flink wat koffiekaarten doorheen gegaan. Bedankt voor de gezelligheid en jullie oplettendheid als ik weer eens iets op mijn kleren gemorst had. Martin en Judith, aan het begin waren er de fietsrondjes en later ook de wandelingen. Bedankt voor de goede vriendschap en vele goede gesprekken.

Lieve familie, bedankt dat jullie altijd interesse zijn blijven houden in mijn verhalen. Het moet bijna onmogelijk geweest zijn om te doorgronden wanneer ik mijn lange studie met onderzoek zou afronden. Dat moment is na 10 jaren aangebroken en ik hoop dat met jullie te kunnen vieren.

Lieve Anet en Masoud, Nastaran en Maarten en Arman, jullie hebben het onderzoek van dichtbij meegemaakt. Jullie zijn altijd geïnteresseerd, niet alleen in het onderzoek, maar vooral in mij. De weekenden in Haren en etentjes in Amsterdam en Groningen zijn me ontzettend dierbaar. Bedankt dat ik door jullie zo fijn ben opgenomen in de familie.

Lieve opa en oma, jullie hebben sinds de start van het onderzoek enorm meegeleefd. Wat ben ik blij dat jullie er nu ook bij kunnen zijn. Terwijl ik dit schrijf weet ik natuurlijk nog niet wat de vragen zullen zijn, maar schrik niet als ook mijn onderzoek nog niet klein en specifiek genoeg is.

Lieve papa en mama, onvoorwaardelijk staan jullie voor ons klaar. Een luisterend oor, klop op de schouder of duwtje in de rug, jullie zijn er altijd. Bij jullie zie ik hoe mooi het is om met passie en enthousiasme te werken, te ontspannen en vooral ook eigen keuzes te maken. Jullie bieden me altijd een warm thuis!

Lieve Marthe en Ymke, wat ben ik blij dat wij zo'n goede band met elkaar hebben en dat jullie vandaag naast mij staan. Waar ik eerder de grote broer was, zijn de rollen nu vaak omgedraaid. Bedankt voor jullie adviezen, van Ginkel humor en talloze bordspellen die we altijd spelen. Ik kan altijd bij jullie terecht. Rense en Jeroen, bedankt voor de gezelligheid en interesse die jullie meebrengen als we samen in Ter Wisch of Groningen zijn.

Lieve Sahar, bedankt dat je mij de afgelopen jaren altijd gesteund hebt. Je stond altijd aan mijn zijde, zelfs als ik in het weekend weer naar de muizen moest of als ik naast mijn ANIOS baan mijn proefschrift probeerde af te maken. Je houdt me een spiegel voor als ik mezelf verlies in mijn enthousiasme. Bij jou kom ik tot rust. Jij bent mijn topper!

About the author

Willem Gerrit (Wiggert) van Ginkel was born on the 23rd of March 1992 in Emmen, the Netherlands. He grew up in a family with two younger sisters in ter Wisch. In 2010 he graduated from high school at the Rijksscholengemeenschap Ter Apel. He subsequently started his study in Medicine at the University of Groningen. During his studies, Wiggert took place in several committees and the University Council. In his third year, he got engaged in doing research. His first research project was at the department of Metabolic Disorders University Medical Center Groningen and concerned a case study about a Tyrosinemia Type 1 patient. It was during this project that Wiggert his curiosity in metabolic research and Tyrosinemia Type 1 in particular increased. This was the beginning of a range of projects of which the next was a research elective about neuropsychological functioning of Tyrosinemia type 1 patients. In 2015 Wiggert successfully applied for a position as a MD/PhD student. This enabled him to continue his research on Tyrosinemia Type 1, which has resulted in this thesis. Parallel to this, Wiggert continued his study in Medicine and conducted his final rotations at the department of Pediatrics, Isala Hospital Zwolle and the department of Metabolic Disorders, University Medical Center Groningen. In 2019 Wiggert became a medical doctor. Currently, he works as a medical resident (ANIOS) at the department of Pediatrics of the Martini Hospital in Groningen.

List of publications

Scientific articles:

van Ginkel WG, Gouw ASH, van der Jagt EJ, de Jong KP, Verkade HJ, van Spronsen FJ. Hepatocellular Carcinoma in Tyrosinemia Type 1 without increase in AFP. *Pediatrics*. 2015 Mar;135(3):e749-52. doi: 10.1542/peds.2014-1913.

van Ginkel WG, Jahja R, Huijbregts SC, Daly A, MacDonald A, De Laet C, Cassiman D, Eyskens F, Körver-Keularts IM, Goyens PJ, McKiernan PJ, van Spronsen FJ. Neurocognitive outcome in Tyrosinemia type 1 patients compared to healthy controls. *Orphanet J Rare Dis*. 2016 Jun 29;11(1):87. doi: 10.1186/s13023-016-0472-5.

van Ginkel WG, van Vliet D, Burgerhof JGM, de Blaauw P, Rubio Gozalbo ME, Heiner-Fokkema MR, van Spronsen FJ. Presumptive brain influx of large neutral amino acids and the effect of phenylalanine supplementation in patients with Tyrosinemia type 1. *PLoS One*. 2017 Sep 26;12(9):e0185342.

Kienstra NS, van Reemst HE, van Ginkel WG, Daly A, van Dam E, MacDonald A, Burgerhof JGM, de Blaauw P, McKiernan PJ, Heiner-Fokkema MR, van Spronsen FJ. Daily variation of NTBC and its relation to succinylacetone in tyrosinemia type 1 patients comparing a single dose to two doses a day. *J Inherit Metab Dis*. 2018 Mar;41(2):181-186. doi: 10.1007/s10545-017-0112-9.

van Vliet K, Rodenburg IL, van Ginkel WG, Lubout CMA, Wolffenbuttel BHR, van der Klauw MM, Heiner-Fokkema MR, van Spronsen FJ. Biomarkers of Micronutrients in Regular Follow-Up for Tyrosinemia Type 1 and Phenylketonuria Patients. *Nutrients*. 2019 Aug 27;11(9). pii: E2011. doi: 10.3390/nu11092011.

Van Vliet D, van der Goot E, van Ginkel WG, van Faassen MHJR, de Blaauw P, Kema IP, Martinez A, Heiner-Fokkema MR, van der Zee EA, van Spronsen FJ. The Benefit of Large Neutral Amino Acid Supplementation to a Liberalized Phenylalanine-Restricted Diet in Adult Phenylketonuria Patients: Evidence from Adult Pah-Enu2 Mice. *Nutrients*. 2019 Sep 19;11(9). pii: E2252. doi: 10.3390/nu11092252.

Van Ginkel WG, van Vliet D, van der Goot E, Faassen MHJR, Vogel A, Heiner-Fokkema MR, van der Zee EA, van Spronsen FJ. Blood and Brain Biochemistry and Behaviour in NTBC and Dietary Treated Tyrosinemia Type 1 Mice. *Nutrients*. 2019 Oct 16;11(10). pii: E2486. doi: 10.3390/nu11102486

van Ginkel WG, van Reemst HE, Kienstra NS, Daly A, Rodenburg IL, MacDonald A, Burgerhof JGM, de Blaauw P, van de Krogt J, Santra S, Heiner-Fokkema MR, van Spronsen FJ. The Effect of Various Doses of Phenylalanine Supplementation on Blood Phenylalanine and Tyrosine Concentrations in Tyrosinemia Type 1 Patients. *Nutrients*. 2019 Nov 18;11(11):2816. doi: 10.3390/nu11112816.

van Vliet K, van Ginkel WG, Jahja R, Daly A, MacDonald A, De Laet C, Vara R, Rahman Y, Cassiman D, Eyskens F, Timmer C, Mumford N, Bierau J, van Hasselt PM, Gissen P, Goyens PJ, McKiernan PJ, Wilcox G, Morris AAM, Jameson EA, Huijbregts SCJ, van Spronsen FJ. Emotional and Behavioral Problems, Quality of Life and Metabolic Control in NTBC-treated Tyrosinemia Type 1 Patients. *Orphanet J Rare Dis* . 2019 Dec 4;14(1):285.

Van Ginkel WG, Rodenburg IL, Harding CO, Hollak CEM, Heiner-Fokkema MR, van Spronsen FJ. Long-Term Outcomes and Practical Considerations in the Pharmacological Management of Tyrosinemia Type 1. *Paediatr Drugs*. 2019 Dec;21(6):413-426. doi: 10.1007/s40272-019-00364-4

van Vliet K, van Ginkel WG, van Dam E, de Blaauw P, Koehorst M, Kingma HA, van Spronsen FJ, Heiner-Fokkema MR. Dried blood spot versus venous blood sampling for phenylalanine and tyrosine. *Orphanet J Rare Dis*. 2020 Apr 3;15(1):82. doi: 10.1186/s13023-020-1343-7.

Book chapters:

Van Ginkel WG, Jahja R, Huijbregts SCJ, van Spronsen FJ. Neurological and Neuropsychological Problems in Tyrosinemia Type I Patients. *Adv Exp Med Biol*. 2017;959:111-122. doi: 10.1007/978-3-319-55780-9_10. Review.

Van Ginkel WG, Pennings JP, van Spronsen FJ. Liver Cancer in Tyrosinemia Type 1. *Adv Exp Med Biol*. 2017;959:101-109. doi: 10.1007/978-3-319-55780-9_9. Review.