

Tirosinemia hereditaria Tipo I

Protocolo de diagnóstico y tratamiento de Tirosinemia tipo I o hepato-renal

Pérez-Cerdá C¹; Del Toro M²; Díaz M. C³; Jara P³

¹Centro de Diagnóstico de Enfermedades Moleculares.
Universidad Autónoma, Madrid.

²Servicio Pediatría.
Hospital Materno-Infantil "Vall d'Hebron", Barcelona.

³Servicio Hepatología.
Hospital Infantil "La Paz", Madrid.

Palabras clave: Tirosinemia; Fumarilacetoacetato hidrolasa; Carcinoma hepatocelular; Trasplante hepático; NTBC.

Correspondencia:

Dra. Celia Pérez-Cerdá.

Centro de Diagnóstico de Enfermedades Moleculares.

Dpto. de Biología Molecular. Facultad de Ciencias.

Universidad Autónoma de Madrid. Cantoblanco.

28049 Madrid.

Tfno: 91 497 48 68. Fax: 91 734 77 97.

e-mail: cpcerda@cbm.uam.es

Introducción

La tirosina se considera un aminoácido semiesencial en humanos, ya que se obtiene de la hidrólisis de las proteínas de la dieta o de la hidroxilación de la fenilalanina. La tirosina puede ser utilizada en la síntesis de proteínas, anabolizada para la producción de neurotransmisores y melanina o bien ser degradada a fumarato y acetoacetato en el citoplasma de los hepatocitos. (Fig. 1).

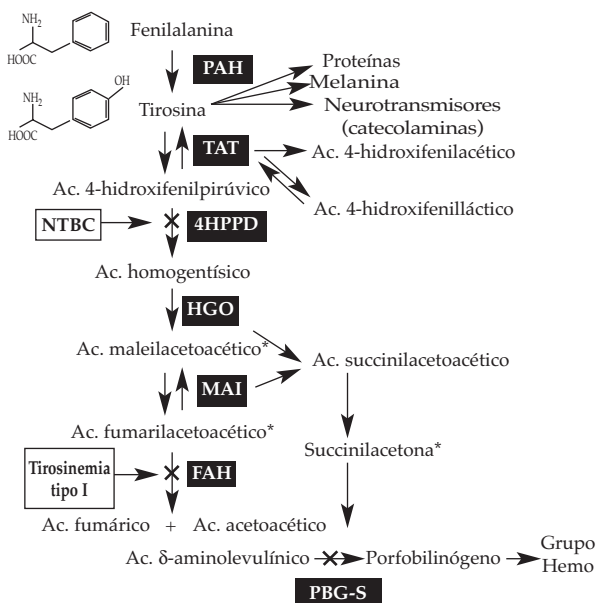


Fig. 1. Metabolismo de la Tirosina. PAH: fenilalanina hidroxilasa; TAT: tirosina aminotransferasa; 4-HPPD: 4-hidroxfenilpiruvato dioxigenasa; HGO: ácido homogentísico oxidasa (HGO); MAI: maleilacetoacetato isomerasa y FAH: fumarilacetoacetato hidrolasa. Se indican los intermediarios tóxicos (*), el sitio de actuación del NTBC y de inhibición del enzima PBG-S: porfobilinógeno sintasa por la succinilacetona.

Tirosinemia hereditaria tipo I

La tirosinemia hereditaria tipo I (THI) o tirosinemia hepato-renal (McKusick 276700) es una enfermedad autosómica recesiva causada por la deficiencia del enzima fumarilacetoacetato hidrolasa (FAH; E. C. 3. 7. 1.2), último enzima en la vía de degradación de la tirosina, que tiene lugar en el citosol de las células hepáticas. Los síntomas clínicos son variables e incluyen fallo hepático agudo, cirrosis, carcinoma hepatocelular (CHC), síndrome renal de Fanconi y neuropatía periférica. Bioquímicamente se caracteriza por hipertirosinemia (HT), tirosiluria (concentraciones aumentadas en orina de tirosina y ácidos 4-hidroxifenilderivados) y niveles elevados de succinilacetona (SA) en plasma y orina, metabolito éste último patognomónico de la enfermedad (1). El gen humano de la FAH ha sido clonado y mapea en el cromosoma 15 (q23-q25) (2). Tiene aproximadamente 35 Kb de longitud y contiene 14 exones. La proteína FAH es un homodímero de 46,3 KDa, no requiere ningún cofactor para su funcionamiento y se expresa fundamentalmente en hígado y riñón.

La THI es una enfermedad rara, de la que se calcula una frecuencia no mayor de 1 caso cada 100.000 recién nacidos vivos en la población mundial (3), con algunas excepciones. Se han registrado numerosos casos de THI en Europa septentrional, especialmente en los países escandinavos, con una frecuencia descrita de 1/50.000 en Noruega y de 1/63.000 en Finlandia. En la región de Saguenay Lac St Jean de la provincia de Quebec, Canadá, la incidencia de la enfermedad es de 1 cada 1.800 recién nacidos (4) y una de cada 25 personas son portadoras de la mutación IVS12+5G>A.

Fisiopatología

No parece probable que la patología hepato-renal de esta enfermedad esté causada por la HT, ya que ésta se

encuentra en otras enfermedades hereditarias que cursan sin síntomas hepáticos ni renales. El hígado es el órgano más afectado en THI. Los síntomas varían desde insuficiencia hepática a cirrosis y CHC. Se ha demostrado que el fumarilacetoacetato (FAA), sustrato de la FAH, es un compuesto citotóxico responsable de apoptosis de hepatocitos y de células epiteliales del túbulo renal (5) (6); también está directamente implicado en el mecanismo de carcinogénesis hepática (7) e inestabilidad cromosómica (8). El mecanismo fisiopatológico mejor conocido en la THI es el de la SA en los episodios agudos de neuropatía periférica porfiria-like. La SA inhibe de forma muy potente el enzima porfobilinógeno sintasa (PBG-S) o δ -aminolevulínico deshidratasa (δ -ALAD) (9), enzima implicada en la ruta biosintética del grupo hemo, produciéndose el acúmulo del ácido δ -aminolevulínico (D-ALA) (Fig. 1). Se ha postulado que el daño oxidativo causado por el aumento de los niveles de D-ALA está relacionado con las manifestaciones neuromusculares (crisis porfiria-like) que presentan algunos pacientes con THI (10). También se ha demostrado que la SA, que tiene gran similitud estructural con el ácido maleico, inhibidor de la función tubular renal, inhibe el transporte renal de glucosa y de aminoácidos (11).

Diagnóstico

A. Diagnóstico diferencial de la hipertirosinemia

La hipertirosinemia puede ser secundaria a enfermedades hereditarias o adquiridas (Tabla I). Las causas más frecuentes de HT son las hepatopatías y la tirosinemia neonatal transitoria. La tirosinemia transitoria en el recién nacido es el resultado de la combinación de la inmadurez del enzima 4-HPPD, de una relativa deficiencia de vitamina C y de una ingesta elevada de proteínas (12). En la práctica, el problema diagnóstico más difícil se plantea ante la HT observada en el contexto de una disfunción hepática de etiología descono-

cida ya que en la cirrosis y en el fallo hepático agudo pueden estar elevados de forma inespecífica los niveles plasmáticos de tirosina y metionina. El hallazgo de una disfunción tubular renal en un paciente con fallo hepatocelular sugiere una THI, pero también puede observarse en la galactosemia, la intolerancia hereditaria de la fructosa, la glucogenosis tipo I, algunas acidosis lácticas y la enfermedad de Wilson.

Tabla I. Causas de hipertirosinemia

Disfunción hepatocelular severa

Errores congénitos del catabolismo de la tirosina

Tirosinemia transitoria del recién nacido

Tirosinemia tipo I o hepatorrenal (Def. FAH)

Tirosinemia tipo II o oculocutánea (Def. TAT)

Tirosinemia tipo III (Def. 4-HPPD)

Otros errores innatos del metabolismo

Galactosemia

Glucogenosis tipo I

Intolerancia hereditaria a la fructosa

Acidosis láctica

Enfermedad de Wilson

Otras

Escorbuto

Hipertiroidismo

Estado postprandial

B. Diagnóstico de la THI

Se basa en:

1. Sintomatología clínica.
2. Exámenes bioquímicos.
3. Estudios genéticos.

La tabla II muestra los hallazgos clínicos y bioquímicos más frecuentes de la enfermedad.

Tabla II. Hallazgos clínicos y bioquímicos en la Tirosinemia Hereditaria tipo I

SÍNTOMAS	
Vómitos	Hepatomegalia
Fallo en el crecimiento	Ictericia
Irritabilidad	Ascitis
Letargia	Tendencia al sangrado
	Nefromegalia
BIOQUÍMICA	
<i>Plasma</i>	<i>Orina</i>
Hipertirosinemia	Tirosiluria
Hipermetioninemia	Aumento succinilacetona
Aumento de succinilacetona	Aumento ác. δ -aminolevulínico
Hiperbilirubinemia	Síndrome de Fanconi-like
Hipoglucemia	Hiperaminoaciduria
Hipoprotrombinemia	Fosfaturia
Hipofosforemia	
Factores de coagulación alterados	
Transaminasas elevadas	
Aumento de α -fetoproteína	
PATOLOGÍA	
Raquitismo	Cirrosis
Síndrome porfiria-like	Carcinoma hepático
Crisis neurológicas	

1. Síntomas clínicos

Los pacientes afectados de THI se han clasificado tradicionalmente en una forma aguda (tipo franco-canadiense), con un rápido deterioro de las funciones hepáticas y renales y una forma crónica (tipo escandinavo), con disfunción renal, cirrosis y carcinoma hepatocelular. De todas formas, los pacientes que debutan como forma aguda en los

primeros años de la vida pueden seguir un curso crónico después y viceversa.

Los recién nacidos diagnosticados en el cribado neonatal suelen presentar ya hepatomegalia, alteración de los factores de coagulación y elevación de transaminasas.

La THI se manifiesta en tres órganos diana: el hígado, el riñón y el sistema nervioso periférico.

- *Manifestaciones hepáticas:*

La crisis hepática aguda suele ser la forma de presentación más habitual de la enfermedad, generalmente desencadenada por una infección intercurrente. Se manifiesta con ascitis, sangrado gastrointestinal, hepatomegalia e ictericia. Existe una afectación de la función de síntesis hepática con una disminución de los factores de coagulación, aumento de los tiempos de protrombina y parcial de tromboplastina y de transaminasas. La α -fetoproteína suele estar elevada ($> 400.000 \mu\text{g/l}$) tanto durante las crisis como entre ellas.

La enfermedad hepática crónica se caracteriza por la aparición de cirrosis y un riesgo muy elevado de carcinoma hepatocelular (CHC). Es frecuente en pacientes no tratados la existencia de nódulos regenerativos que son difíciles de diferenciar por imagen del CHC (13). Un aumento de α -fetoproteína en ausencia de crisis hepática debe hacer sospechar un CHC.

- *Manifestaciones renales:*

Todos los pacientes suelen presentar un grado variable de afectación renal, desde una leve disfunción tubular hasta una insuficiencia renal franca. La tubulopatía más frecuente consiste en la pérdida de fosfatos que da lugar a raquitismo hipofosfatémico. Puede haber acidosis tubular proximal e hiperaminoaciduria generalizada. Es frecuente observar en la ecografía renal una

nefromegalia y algunas veces nefrocalcinosis moderada.

- *Crisis neurológicas:*

Son episodios agudos de neuropatía periférica de 1 a 7 días de duración caracterizados por crisis dolorosas que se manifiestan con irritabilidad, dolor en extremidades inferiores, hiperextensión extrema de tronco y cuello que puede confundirse con opistótonos. Pueden acompañarse de signos autonómicos (hipertensión arterial y taquicardia) y parálisis muscular.

- *Otras manifestaciones clínicas.*

Podemos encontrar una hipertrofia de los islotes pancreáticos que puede originar hipoglucemias por hiperinsulinismo, aunque en general es asintomática. Así mismo, se han descrito casos con miocardiopatía hipertrófica.

2. Exámenes bioquímicos

2.1. Cuantificación de aminoácidos:

- a) Niveles plasmáticos elevados de tirosina ($> 200 \mu\text{mol/l}$), metionina (en algunos casos la hipermetioninemia es mayor que la HT), y de fenilalanina.
- b) Hiperaminoaciduria generalizada con especial aumento de tirosina y metionina. Niveles elevados del ácido δ -aminolevulínico en orina.

2.2. Análisis de ácidos orgánicos por cromatografía de gases -espectrometría de masas:

- a) Niveles aumentados en orina de los ácidos 4-hidroxifenil derivados (ácidos 4-hidroxifenil láctico, 4-hidroxifenil acético y 4-hidroxifenil pirúvico), ác. succinilacetato y succinilacetona.
- b) Niveles aumentados de succinilacetona en plasma.

2.3. Determinaciones enzimáticas:

- a) Medida de la actividad PBG-S o δ -ALAD en sangre total heparinizada (no usar nunca

EDTA-K₃ como anticoagulante) o eritrocitos (14). Esta actividad se inhibe muy sensible y específicamente por acción de la SA, disminuyendo el valor de la actividad PBG-S a menos del 10% del valor control.

- b) Medida de la actividad FAH en linfocitos, fibroblastos de piel cultivados, biopsia hepática y/o eritrocitos, que se encuentra muy disminuida (< 5% del valor control) (15).

3. Estudios genéticos

Es posible la detección de mutaciones mediante técnicas sencillas de biología molecular. Existe una gran heterogeneidad genética y se han descrito hasta la fecha alrededor de cuarenta y siete mutaciones (16) (17, 18), algunas asociadas a un grupo de población concreto; por ejemplo, la mutación IVS12+5G-> A a la población franco-canadiense, la mutación W262X en los fineses (19), y la IVS6-1G-> T a la población mediterránea, lo que facilita el genotipado de pacientes y los estudios prenatales y de portadores. Pacientes con el mismo genotipo pueden presentar un cuadro clínico diferente (20). Sin embargo, se han relacionado determinadas mutaciones con la existencia de mosaicismo (reversión de DNA mutado a normal) en los nódulos regenerativos del hígado de pacientes con HTI (13). La amplitud de la reversión de dicha mutación del gen FAH en el hígado de los pacientes sí se correlaciona inversamente con la gravedad clínica de la enfermedad (21).

C. Diagnóstico de portadores y prenatal de la THI

La detección de portadores mediante la determinación enzimática de la FAH no es recomendable por carecer de especificidad suficiente, ya que algunos portadores pueden tener una actividad residual alta indistinguible de controles. Por otro lado, se ha descrito en ciertos

individuos asintomáticos y sin HT la existencia de alelos pseudodeficientes con una actividad FAH muy baja (10% del valor control) (22). Sí es posible la detección de portadores por técnicas de biología molecular cuando el caso índice está genotipado (23).

En familias de alto riesgo para THI, puede llevarse a cabo el diagnóstico prenatal (24) mediante diferentes técnicas:

- 1- Cuantificación de succinilacetona en líquido amniótico.
- 2- Medida de la FAH en vellosidad corial.
- 3- Análisis de mutaciones en vellosidad corial o amniocitos, en el caso en el que las mutaciones de los padres estén identificadas.

D. Detección neonatal precoz de THI

Se lleva a cabo mediante la cuantificación de la tirosina en sangre en papel en los programas de detección precoz de metabolopatías, mediante espectrometría de masas en tandem (MS-MS). Sin embargo, esta técnica carece de especificidad, debido a que HT puede encontrarse también en otras condiciones fisiológicas (tirosinemia benigna transitoria) o patológicas del recién nacido; y de sensibilidad, ya que los niveles de tirosina pueden estar normales en recién nacidos afectados, sobre todo si salen pronto del hospital. Por ello, en estos últimos años se han desarrollado métodos relativamente sencillos y fácilmente aplicables para la cuantificación de SA en sangre en papel mediante MS-MS (25). El diagnóstico presintomático de la THI a los pocos días de vida, puede prevenir la enfermedad hepática y posiblemente el desarrollo de carcinoma hepatocelular en pacientes.

Hallazgos anatomopatológicos

El hígado de los pacientes con THI puede presentar severas alteraciones: **a)** cirrosis micronodular que puede evolucionar a macronodular, **b)** carcinoma hepatocelular

que puede ser multifocal y dar lugar a metástasis. A veces sólo se observan nódulos regenerativos.

Los riñones suelen estar aumentados de tamaño pudiendo alcanzar hasta tres veces su tamaño normal. Existen alteraciones glomerulares tipo glomerulosclerosis y dilatación tubular proximal.

Los nervios periféricos pueden mostrar degeneración axonal con desmielinización secundaria, lesiones similares a las de las crisis porfíricas.

Pueden observarse además importantes lesiones óseas de raquitismo, hipertrofia de los islotes pancreáticos y miocardiopatía.

Tratamiento

A. Dietético

El objetivo del tratamiento dietético es mantener los niveles plasmáticos de tirosina entre 200-400 $\mu\text{mol/l}$ y de fenilalanina entre 30-70 $\mu\text{mol/l}$, para lo que se requiere una dieta baja en ambos aminoácidos:

- Restricción de proteínas naturales de la dieta con un aporte entre 0,5 y 1 g/kg/día que cubre las necesidades de fenilalanina y tirosina diarias (400-500 mg/día hasta los 2 años y de 900 mg/día de 2 a 10 años). De forma orientativa pueden servir las tablas preparadas para pacientes con fenilcetonuria.
- El resto de aporte proteico hasta el total de necesidades diarias (hasta 3 g/kg/día (0-2 años), 2,5 g/kg/día (2-6 años), 2 g/kg/día (6-10 años) y 1,5 g/kg/día (10-14 años), se suministra en forma de preparados exentos de fenilalanina y tirosina bien sea en fórmulas hidrolizadas o suplementos proteicos (gama XPHEN TYR de SHS, gama TYROS de Mead-Johnson, gama TYR de Milupa) (Tabla III).

Se administrará siempre un aporte suficiente de calorías y nutrientes para evitar catabolismo y se controlarán

los niveles de vitaminas y elementos traza. En recién nacidos y lactantes pequeños puede combinarse la lactancia materna con el uso de fórmulas exentas de fenilalanina y tirosina (26).

Tabla III. Preparados para el tratamiento de THI (gramos por 100 g)

	Fórmulas			Suplementos proteicos		
	XPHEN, TYR ANALOG (SHS)	TYROS (MEAD-J) 1	410 2	XPHEN, TYR MAXAMAID (SHS)	TYR (MILUPA) 1	2
Calorías (Kcal)	475	500	410	309	284	303
Proteínas	13	16,7	22	25	47	63
TYR	-	-	-	-	-	-
PHE	-	-	-	-	-	-
Lípidos	23	26	8,5	< 0,5	0	0
H. de carbono	54	51	60	51	23,7	12,7

B. Médico

El NTBC (2-(2-nitro-4-trifluorometibenzoil)-1-3-ciclohexanediona) es una tricetona con actividad herbicida capaz de inhibir la actividad del enzima 4-HPPD y en consecuencia prevenir la degradación de la tirosina y la formación de metabolitos tóxicos (26) (27) (28). Actualmente el NTBC es distribuido por Swedish Orphan en forma de cápsulas de 2, 5 y 10 mg (Nitisinone). La dosis inicial es de 1 mg/kg/día repartido en 2 dosis que se modificará en función de la respuesta individual del paciente (entre 0,5 y 1,5 normalmente). Durante el tratamiento con NTBC debe mantenerse la dieta restringida en fenilalanina y tirosina puesto que el bloqueo de la vía a un nivel más proximal facilita el acúmulo de tirosina y su toxicidad.

Los efectos bioquímicos del tratamiento son:

- Normalización de la concentración de SA en orina y plasma.

- Normalización del valor de la actividad PBG-S eritrocitaria.
- Disminución de los niveles de δ -ALA en orina.
- Aumento de los niveles de tirosina plasmática, que no deben exceder los 500 $\mu\text{mol/l}$, así como la de sus 4-hidroxifenilderivados.
- Niveles de NTBC entre 15-40 $\mu\text{mol/l}$.
- Normalización de los niveles de α -fetoproteína.

Durante el seguimiento de los pacientes tratados con NTBC a largo plazo deben controlarse:

- Desarrollo pondoestatural, estado nutricional.
- Función hepática tanto por análisis periódicos (α -fetoproteína, bilirrubina, estudio de coagulación) como por estudios de imagen (ecografía y TAC).
- Función renal tanto por datos analíticos (función tubular renal) como estudios de imagen (ecografía).
- Exámenes oftalmológicos en caso de molestias oculares.

Los controles clínicos y bioquímicos deben practicarse cada 3 meses y el control ecográfico cada 6 meses.

El tratamiento con NTBC es generalmente bien tolerado.

Los efectos secundarios que se han descrito son:

- Trombocitopenia y/o neutropenia transitorias.
- Aumento de transaminasas.
- Lesiones corneales (erosiones, opacidad corneal) que se manifiestan con picor o fotofobia. Estas lesiones oculares se observan en el 5% de los pacientes tratados con NTBC y se relacionan con los niveles altos de tirosina. Pueden desaparecer de forma espontánea, pero es recomendable reducir de forma transitoria la dosis de NTBC y regular los niveles plasmáticos de tirosina (29).

C. Trasplante hepático

Antes de la posibilidad del tratamiento con NTBC, el trasplante hepático era el tratamiento de elección en la THI (30) (31) (32). Actualmente, el trasplante hepá-

tico ofrece una alternativa a los pacientes críticamente enfermos que no muestran mejoría con el NTBC (insuficiencia hepática grave aguda o crónica) y a los pacientes que presentan carcinoma hepatocelular.

El trasplante evitaría el desarrollo del carcinoma hepatocelular permitiendo, además, una dieta normal. Corrige las alteraciones metabólicas y normaliza la función hepática. Después del trasplante puede persistir en orina SA en pequeña cantidad; es de origen renal, pero se cura la tubulopatía.

Excepcionalmente puede necesitarse trasplante combinado heparrenal.

Descompensaciones agudas y medidas domiciliarias

Los pacientes con tirosinemia tratados con NTBC y con una dieta restringida en fenilalanina y tirosina no suelen presentar descompensaciones severas salvo en casos de incumplimiento terapéutico o dietético prolongado. En el momento del diagnóstico, que en los lactantes suele coincidir con una situación de fallo hepático se recomienda:

- Retirar la tirosina y fenilalanina de la dieta durante 24-48 h, administrando una fórmula especial exenta de tirosina y fenilalanina y asegurando un aporte calórico e hídrico adecuado. El aporte proteico total se ajustará al estado del paciente.
- Reintroducir progresivamente las cantidades de tirosina y fenilalanina necesarias para completar las necesidades mínimas comentadas previamente.
- Iniciar el tratamiento con NTBC a 1 mg/kg/día en 2 dosis.

Las crisis de descompensación severas se caracterizan por:

- Disfunción renal con acidosis tubular severa e hipertensión arterial refractaria a tratamientos habituales.

- Fallo hepático agudo.
- Crisis neuropática.

En estos casos es necesario la estabilización y tratamiento en una unidad de cuidados intensivos.

En caso de situaciones de estrés metabólico (infección, ayuno prolongado) es conveniente realizar medidas preventivas domiciliarias, reduciendo temporalmente el aporte de proteínas naturales y compensando el aporte calórico y asegurando un aporte hídrico adecuado.

Pronóstico

El pronóstico de la THI ha ido variando en el tiempo en función de los tratamientos utilizados. En pacientes tratados únicamente con dieta restringida de Phe+Tyr, Van Sprosen (33) refiere una supervivencia a los dos años del 29% en los pacientes con la forma de presentación muy temprana (< 2 meses) y del 74% entre los de presentación temprana (2-6 meses). El trasplante hepático mejoró considerablemente el pronóstico de la enfermedad, normalizándose la función hepática y evitándose las complicaciones neurológicas, aunque persistía cierta disfunción renal.

El tratamiento con NTBC constituye una excelente alternativa terapéutica al trasplante hepático a corto y medio plazo. El seguimiento en el protocolo internacional coordinado por Holme (27) evidencia una respuesta clínica en el 90% de los pacientes con desaparición de las manifestaciones hepáticas, renales y neurológicas. Cabe destacar que ninguno de los 101 pacientes que iniciaron el tratamiento con NTBC antes de los dos años desarrolló CHC. Otros autores han descrito casos aislados en los que a pesar del tratamiento con NTBC durante largo tiempo, el paciente ha acabado desarrollando CHC (34). En el futuro, la terapia génica, actualmente en fase experimental en ratones, con la transferencia de vectores no virales que se integran en el genoma hepático

corrigiendo el déficit de FAH, podría mejorar el pronóstico de la enfermedad.

Referencias

1. Mitchell GA, Lambert M, Tanguay RM. Hypertyrosinemia. En Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds). The metabolic and molecular bases of inherited disease. McGraw-Hill; 1995. p. 1077-105.
2. Phaneuf D, Labelle Y, Berube D, Arden K, Cavenee W, Gagne R, et al. Cloning and expression of the cDNA encoding human fumarylacetoacetate hydrolase, the enzyme deficient in hereditary tyrosinemia: assignment of the gene to chromosome 15. *Am J Hum Genet* 1991; 48(3):525-35.
3. Russo PA, Mitchell GA, Tanguay RM. Tyrosinemia: a review. *Pediatr Dev Pathol* 2001;4(3):212-21.
4. De Braekeleer M, Larochelle J. Genetic epidemiology of hereditary tyrosinemia in Quebec and in Saguenay-Lac-St-Jean. *Am J Hum Genet* 1990;47(2):302-7.
5. Endo F, Sun MS. Tyrosinaemia type I and apoptosis of hepatocytes and renal tubular cells. *J Inherit Metab Dis* 2002;25(3):227-34.
6. Kubo S, Sun M, Miyahara M, Umeyama K, Urakami K, Yamamoto T, et al. Hepatocyte injury in tyrosinemia type 1 is induced by fumarylacetoacetate and is inhibited by caspase inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95(16): 9552-7.
7. Jorquera R, Tanguay RM. The mutagenicity of the tyrosine metabolite, fumarylacetoacetate, is enhanced by glutathione depletion. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 232(1):42-8.
8. Jorquera R, Tanguay RM. Fumarylacetoacetate, the metabolite accumulating in hereditary tyrosinemia, activates the ERK pathway and induces mitotic abnormalities and genomic instability. *Hum Mol Genet* 2001; 10(17):1741-52.
9. Sassa S, Kappas A. Hereditary tyrosinemia and the heme biosynthetic pathway. Profound inhibition of delta-aminolevulinic acid dehydratase activity by succinylacetone. *J Clin Invest* 1983;71(3):625-34.
10. Hermes-Lima M, Valle VG, Vercesi AE, Bechara EJ. Damage to rat liver mitochondria promoted by delta-aminolevulinic acid-generated reactive oxygen species: connections

- with acute intermittent porphyria and lead-poisoning. *Biochim Biophys Acta* 1991;1056(1):57-63.
11. Roth KS, Spencer PD, Higgins ES, Spencer RF. Effects of succinylacetone on methyl alpha-D-glucoside uptake by the rat renal tubule. *Biochim Biophys Acta* 1985; 820(1): 140-6.
 12. Techakittiroj C, Cunningham A, Hooper PF, Andersson HC, Thoene J. High protein diet mimics hypertyrosinemia in newborn infants. *J Pediatr* 2005;146(2):281-2.
 13. Kvittingen EA, Rootwelt H, Berger R, Brandtzaeg P. Self-induced correction of the genetic defect in tyrosinemia type I. *J Clin Invest* 1994;94(4):1657-61.
 14. Burch HB, Siegel AL. Improved method for measurement of delta-aminolevulinic acid dehydratase activity of human erythrocytes. *Clin Chem* 1971;17(10):1038-41.
 15. Kvittingen EA, Brodtkorb E. The pre- and post-natal diagnosis of tyrosinemia type I and the detection of the carrier state by assay of fumarylacetoacetase. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 1986;184:35-40.
 16. St-Louis M, Tanguay RM. Mutations in the fumarylacetoacetate hydrolase gene causing hereditary tyrosinemia type I: overview. *Hum Mutat* 1997;9(4):291-9.
 17. Bergman AJ, van den Berg IE, Brink W, Poll-The BT, Ploos van Amstel JK, Berger R. Spectrum of mutations in the fumarylacetoacetate hydrolase gene of tyrosinemia type 1 patients in northwestern Europe and Mediterranean countries. *Hum Mutat* 1998;12(1):19-26.
 18. Arranz JA, Pinol F, Kozak L, Pérez-Cerdá C, Cormand B, Ugarte M, et al. Splicing mutations, mainly IVS6-1(G > T), account for 70% of fumarylacetoacetate hydrolase (FAH) gene alterations, including 7 novel mutations, in a survey of 29 tyrosinemia type I patients. *Hum Mutat* 2002; 20(3): 180-8.
 19. St-Louis M, Leclerc B, Laine J, Salo MK, Holmberg C, Tanguay RM. Identification of a stop mutation in five Finnish patients suffering from hereditary tyrosinemia type I. *Hum Mol Genet* 1994;3(1):69-72.
 20. Poudrier J, Lettre F, Scriver CR, Larochelle J, Tanguay RM. Different clinical forms of hereditary tyrosinemia (type I) in patients with identical genotypes. *Mol Genet Metab* 1998;64(2):119-25.
 21. Demers SI, Russo P, Lettre F, Tanguay RM. Frequent mutation reversion inversely correlates with clinical severity in a genetic liver disease, hereditary tyrosinemia. *Hum Pathol* 2003;34(12):1313-20.
 22. Rootwelt H, Brodtkorb E, Kvittingen EA. Identification of a frequent pseudodeficiency mutation in the fumary-

- lacetoacetase gene, with implications for diagnosis of tyrosinemia type I. *Am J Hum Genet* 1994; 55(6):1122-7.
23. Poudrier J, St-Louis M, Lettre F, Gibson K, Prevost C, Larochelle J, et al. Frequency of the IVS12 + 5G→A splice mutation of the fumarylacetoacetate hydrolase gene in carriers of hereditary tyrosinaemia in the French Canadian population of Saguenay-Lac-St-Jean. *Prenat Diagn* 1996;16(1):59-64.
 24. Ploos van Amstel JK, Jansen RP, Verjaal M, van den Berg IE, Berger R. Prenatal diagnosis of type I hereditary tyrosinaemia. *Lancet* 1994;344(8918):336.
 25. Sander J, Janzen N, Peter M, Sander S, Steuerwald U, Holtkamp U, et al. Newborn screening for hepatorenal tyrosinemia: Tandem mass spectrometric quantification of succinylacetone. *Clin Chem* 2006;52(3):482-7.
 26. McKiernan PJ. Nitisinone in the treatment of hereditary tyrosinaemia type 1. *Drugs* 2006;66(6):743-50.
 27. Holme E, Lindstedt S. Tyrosinaemia type I and NTBC (2-(2-nitro-4-trifluoromethylbenzoyl)-1,3-cyclohexanedione). *J Inherit Metab Dis* 1998;21(5):507-17.
 28. Arranz A, Rigante D, Antuzzi D, Riudor E. Gene symbol: FAH. Disease: tyrosinaemia 1. *Hum Genet* 2005;118(3-4):537.
 29. Gissen P, Preece MA, Willshaw HA, McKiernan PJ. Ophthalmic follow-up of patients with tyrosinaemia type I on NTBC. *J Inherit Metab Dis* 2003;26(1):13-6.
 30. Paradis K, Weber A, Seidman EG, Larochelle J, Garel L, Lenaerts C, et al. Liver transplantation for hereditary tyrosinemia: the Quebec experience. *Am J Hum Genet* 1990;47(2):338-42.
 31. Murcia FJ, Vázquez J, Gámez M, López Santamaría M, de la Vega A, Díaz MC, et al. Liver transplantation in type I tyrosinemia. *Transplant Proc* 1995;27(4):2301-2.
 32. Pérez-Cerdá C, Merinero B, Sanz P, Castro M, Gangoiiti J, García MJ, et al. Liver transplantation in nine Spanish patients with tyrosinaemia type I. *J Inherit Metab Dis* 1995;18(2):119-22.
 33. Van Spronsen FJ, Thomasse Y, Smit GP, Leonard JV, Clayton PT, Fidler V, et al. Hereditary tyrosinemia type I: a new clinical classification with difference in prognosis on dietary treatment. *Hepatology* 1994;20(5):1187-91.
 34. Van Spronsen FJ, Bijleveld CM, van Maldegem BT, Wijburg FA. Hepatocellular carcinoma in hereditary tyrosinemia type I despite 2-(2 nitro-4-3 trifluoro- methylbenzoyl)-1, 3-cyclohexanedione treatment. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005;40(1):90-3.