

ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟΥ***Νέα μετάλλαξη στο γονίδιο της Γλυκογονίασης τύπου III***

Κ. Τζιούβας, Γ. Τριανταφυλλίδης, Ε. Ξένου, Τ. Τσαπρούνη, Ι. Παπανδρέου, Ζ. Γκερλέ

Παιδιατρική Κλινική, Γενικό Νοσοκομείο Πειραιά «Τζάνειο»

(Επιστημονικά Χρονικά 2012;17(2):100-104)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η Γλυκογονίαση τύπου III αποτελεί σπάνιο γενετικό νόσημα που κληρονομείται με το αυτοσωματικό υπολειπόμενο χαρακτήρα. Οφείλεται σε μετάλλαξη στο γονίδιο AGL που εντοπίζεται στο χρωμοσωματικό τόπο 1p21 και κωδικοποιεί ένα ένζυμο υπεύθυνο για την αποδόμηση των διακλαδισμένων αλύσων του γλυκογόνου στο ήπαρ και στους μύες.

Αναφέρουμε την περίπτωση ενός άρρενος νηπίου 18 μηνών που εισήχθη στο νοσοκομείο μας για διερεύνηση ηπατομεγαλίας, η οποία διαπιστώθηκε σε τυπικό κλινικό έλεγχο στα εξωτερικά ιατρεία του νοσοκομείου μας. Αφού αποκλείσαμε λοιμώδη και αυτοάνοσα αίτια, συνεχίσαμε τον έλεγχο για πιθανό μεταβολικό γενετικό νόσημα. Κατά την διάρκεια πρόκλησης με νηστεία ανέπτυξε ασυμπτωματική υπογλυκαιμία και οξέωση. Ο συνδυασμός της κλινικής εικόνας και βιοχημικών παραμέτρων μας οδήγησε στην αναζήτηση γενετικής διαταραχής του μεταβολισμού του γλυκογόνου.

Για να τεθεί η διάγνωση πραγματοποιήθηκε γονιδιακός μοριακός έλεγχος πλήρους ανάλυσης της αλληλουχίας του γονιδίου AGL με PCR. Διαπιστώθηκε ότι το παιδί είναι διπλός ετεροζυγώτης στις σημειακές μεταλλάξεις (c.3929G>A p.W1310X και c.4474C>T p.Q1492X). Οι συγκεκριμένες μεταλλάξεις οδηγούν σε πρώιμα κωδικόνια τερματισμού της αντιγραφής του DNA και δεν έχουν περιγραφεί στην βιβλιογραφία.

Πρέπει να τονίσουμε ότι η πλήρης ανάλυση της αλληλουχίας ενός γονιδίου με PCR αποτελεί ένα σύγχρονο, ασφαλή και αποτελεσματικό εργαλείο για την διάγνωση γενετικών νοσημάτων.

Λέξεις ευρητηρίου: Γλυκογονίαση, γονιδιακή ανάλυση, ηπατομεγαλία, AGL.

(Υποβολή: 20/3/12, Αποδοχή: 3/4/12)

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι Γλυκογονιάσεις αποτελούν γενετικά νοσήματα που χαρακτηρίζονται από ενζυμική ανεπάρκεια στον ενεργειακό μεταβολισμό του γλυκογόνου. Πάνω από 12 διαταραχές έχουν περιγραφεί μέχρι σήμερα (1). Η ταξινόμηση τους γίνεται με δυο τρόπους. Αριθμητικά ανάλογα με την ημερομηνία ανακάλυψής τους ή ανάλογα με τα όργανα που προσβάλλονται. Ο δεύτερος τρόπος διαχωρίζει τις γλυκογονιάσεις σε ηπατικές ή μυϊκές.

Η Γλυκογονίαση τύπου III (Νόσος Cori, Νόσος Forbes) αποτελεί γενετικό νόσημα κληρονομούμενο με τον αυτοσωματικό υπολειπόμενο χαρακτήρα [1]. Η επίπτωση στην Ευρώπη υπολογίζεται σε 1 περιστατικό ανά 83000 γεννήσεις (1). Σαν νόσος αποτελεί το 24% του συνόλου των Γλυκογονιάσεων [1]. Οφείλεται σε μετάλλαξη στο γονίδιο AGL στο χρωμοσωματικό

τόπο 1p21 [2]. Το προϊόν του γονιδίου είναι ένα ένζυμο απαραίτητο για την αποδόμηση των διακλαδισμένων αλύσων του γλυκογόνου στο ήπαρ και στους μύες [2]. Η Γλυκογονίαση τύπου III μπορεί να εκδηλωθεί με μεγάλο εύρος κλινικών και εργαστηριακών ευρημάτων. Κλασικά, χαρακτηρίζεται από ηπατομεγαλία, υπογλυκαιμία, κετονουρία, υπερλιπιδαιμία και ανεπαρκή σωματική ανάπτυξη [3]. Διαχωρίζεται σε δυο κυρίες μορφές ανάλογα με την παρουσία μυοπάθειας. Ο τύπος IIIα αντιπροσωπεύει το 85% των περιπτώσεων χαρακτηρίζεται από ηπατοπάθεια νωρίς στην βρεφική ηλικία και προοδευτική μυοπάθεια των σκελετικών μυών και του μυοκαρδίου [3]. Η Γλυκογονίαση IIIβ (15%) αφορά μόνο την προσβολή του ήπατος [3].

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗΣ

Νήπιο άρρεν 18 μηνών εισήχθη στην Παιδιατρική κλινική για διερεύνηση ηπατομεγαλίας που διαπιστώθηκε σε τυπικό κλινικό έλεγχο στα εξωτερικά ιατρεία της κλινικής. Το νήπιο γεννήθηκε τελειόμηνο με φυσιολογικό τοκετό και είναι το πρώτο παιδί της οικογένειας. Σε ηλικία 12 μηνών είχε νοσηλευτεί λόγω πολλαπλών επεισοδίων εμετών και διαρροϊκών κενώσεων. Κατά τον εργαστηριακό έλεγχο είχε διαπιστωθεί ήπια αύξηση των τρανσαμινασών και οριακές διαστάσεις του ήπατος στον υπερηχογραφικό έλεγχο. Τα σωματομετρικά ευρήματα στην εισαγωγή ήταν Βάρος σώματος 75η εκατοστιαία θέση, Ύψος 90η εκατοστιαία θέση και Περίμετρος Κεφαλής στην 75η εκατοστιαία θέση. Δεν παρουσίαζε χαρακτηριστικό προσώπιο και κατά την επισκόπηση εντύπωση έκανε η κοιλιακή προπέτεια. Η ψυχοσωματική ανάπτυξη υπολειπόταν στην αδρή κινητικότητα καθώς και στην ανάπτυξη του λόγου. Από την κλινική εξέταση των συστημάτων παρουσιάζε έντονη κοιλιακή διάταση με ήπαρ ανώδυνο με ομαλή παρυφή που καταλάμβανε όλη την δεξιά κοιλιακή χώρα από το θωρακικό τοίχωμα μέχρι σχεδόν το ύψος της δεξιάς λαγόνιας ακρολοφίας. Ο σπλήνας ήταν αφηλάφητος και η κοιλιά ανώδυνη κατά την ψηλάφηση. Δεν παρατηρήθηκε ελεύθερο υγρό στην περιτοναϊκή κοιλότητα και οι εντερικοί ήχοι ήταν κατά φύση. Η εξέταση των άλλων συστημάτων δεν ανέδειξε παθολογικά ευρήματα. Τα ευρήματα κατά τον αρχικό εργαστηριακό έλεγχο παρουσιάζονται στον πίνακα 1. Ο εκτεταμένος έλεγχος για λοιμώδη και αυτοάνοσα νοσήματα απέβη αρνητικός. Ο υπερηχογραφικός έλεγχος ανέδειξε ηπατομεγαλία χωρίς εστιακές ανωμαλίες. Τα υπόλοιπα κοιλιακά όργανα ήταν φυσιολογικά. Ο υπερηχογραφικός έλεγχος της καρδιάς ήταν

φυσιολογικός. Η ηλικία, η παρουσία ηπατομεγαλίας και η βιοχημική παρουσία υπογλυκαιμίας, δυσλιπιδαιμίας, μυοπάθειας και ηπατίτιδας ήταν ενδεικτικές γενετικού μεταβολικού νοσήματος. Για να θέσουμε την διάγνωση υποβάλλαμε τον ασθενή σε ολονύχτια νηστεία. Οι βιοχημικοί παράμετροι που συγκεντρώσαμε εμφανίζονται στον πίνακα 1. Το συγκεκριμένο βιοχημικό προφίλ ήταν ενδεικτικό Γλυκογονίαςης. Αξίζει να αναφερθεί ότι ο ασθενής μας ήταν εντελώς ασυμπτωματικός παρά την πολύ χαμηλή συγκέντρωση γλυκόζης στον ορό.

Για να τεθεί η διάγνωση και να καθοριστεί ο συγκεκριμένος τύπος αποφασίσαμε να κάνουμε μοριακή γενετική ανάλυση ακολουθίας βάσεων με PCR σε κέντρο αναφοράς της Γερμανίας. Αφού πάρθηκε η αναγκαία άδεια από το επιστημονικό συμβούλιο του Νοσοκομείου μας και τους γονείς, στάλθηκε ολικό αίμα από τον ασθενή και τους γονείς του στο κέντρο αναφοράς. Η μοριακή ανάλυση ανέδειξε ότι ασθενής μας ήταν διπλός ετεροζυγώτης σημειακών μεταλλάξεων η πρώτη στο εξώνιο 28 κωδικόνιο 1310 c.3929G>A και η δεύτερη στο εξώνιο 32 κωδικόνιο 1492 c.4474C>T) στο γονίδιο AGL υπεύθυνες για την φαινοτυπική εκδήλωση της Γλυκογονίαςης τύπου IIIa. Και οι δυο αυτές μεταλλάξεις οδηγούν σε κωδικόνια πρόωρου τερματισμού της μεταγραφής του DNA στο mRNA. Περαιτέρω ανάλυση στους γονείς ανέδειξε ότι οι μεταλλάξεις στο νήπιο δεν ήταν de novo αλλά κληρονομήθηκαν από αυτούς. Ο ασθενής έκτοτε ετέθη σε ειδική διαιτητική αγωγή και ιατρική παρακολούθηση με προοδευτική βελτίωση των βιοχημικών παραμέτρων. Η μητέρα του ασθενούς ήταν έγκυος στο πρώτο τρίμηνο της κύησης. Η παρακέντηση αμνιακού υγρού ανέδειξε ότι ο έμβρυο έπασχε και αυτό από την νόσο και η οικογένεια προχώρησε σε θεραπευτική έκτρωση.

Πίνακας 1. Εργαστηριακός βιοχημικός έλεγχος ασθενούς	
Κατά την εισαγωγή	Μετά από ολονύχτια (8 ωρών) νηστεία
Ουρία 23 mgr /dl Κρεατινίνη 0,5 mgr /dl Γλυκόζη 54 mgr /dl Na 134 meq/l K 4,8 meq/l SGOT/SGPT 1183/948 u/l Χολερυθρίνη ολική 0,4 mgr/dl γ-GT 155 u/l ALP 305 U/L LDH 726 U/L CPK 483 U/L CPK-MB 49 U/L Τροπονίνη 0,01 ngr/ml Λευκώματα 7,2 gr/dl Αλβουμίνη 4,7 gr/dl Αμυλάση 11 U/L Χοληστερόλη 225 mgr/dl Τριγλυκερίδια 661 mgr/dl HDL 13 mgr/dl, LDL 79,8 mgr/dl PT 11,9 aPTT 31,8 INR 1,1	Γλυκόζη 20 mgr/dl Χοληστερόλη 216 mgr/dl Τριγλυκερίδια 356 mgr/dl Ουρικό οξύ 3,7 mgr/dl NH ₃ αίματος 27 μmol/l Γαλακτικό οξύ 0,8 mmol/l pH 7,35 HCO₃ 15 mmol/l Κετονικά σώματα αίματος 2.5 mmol/L

ΣΧΟΛΙΟ

Η Γλυκογονίαση τύπου III κατά την βρεφική και παιδική ηλικία χαρακτηρίζεται από ηπατομεγαλία, υπογλυκαιμία, υπερλιπιδαιμία και καθυστερημένη ανάπτυξη [3]. Στους ασθενείς με τύπο IIIa μπορεί να συνυπάρχει και ποικίλου βαθμού μυοπάθεια και καρδιομυοπάθεια [3]. Η αύξηση της CPK είναι χαρακτηριστική, αν και φυσιολογικά επίπεδα της δεν αποκλείουν την έλλειψη του ενζύμου στους μύες [3]. Η ηπατομεγαλία είναι εντυπωσιακή και υπερέρχει όλων των άλλων ευρημάτων κατά την βρεφική και παιδική ηλικία. Όμως βελτιώνεται με την είσοδο των ασθενών στην εφηβεία. Σημαντικό διαγνωστικό εύρημα είναι ότι οι τρανσαμινάσες στον τύπο III είναι συνήθως σε τριψήφιες συγκεντρώσεις [3]. Η ηπατική κίρρωση είναι σπάνια κατάληξη της νόσου αν και οι ασθενείς έχουν αυξημένη επίπτωση αδενωμάτων (3-25%) και ηπατοκυτταρικού καρκινώματος [4]. Η μυϊκή συμμετοχή στον τύπο IIIa ποικίλει από βαριά θανατηφόρα καρδιομυοπάθεια μέχρι υποκλινική σκελετική συμμετοχή [3]. Η συχνότερη αιτία κατάληξης των ασθενών με τύπο III είναι η ανάπτυξη κακοήθων αρρυθμιών [5]. Συχνές επιπλοκές είναι η οστεοπόρωση και η ανάπτυξη Πολυκυστικών ωοθηκών [6].

Το γονίδιο AGL στον χρωμοσωματικό τόπο 1p21 είναι υπεύθυνο για την παραγωγή του ενζύμου που αποδομεί τις διακλαδισμένες αλύσους του αποθηκευμένου στους μύες και στο ήπαρ γλυκογόνου [2]. Απώλεια της δραστηριότητας του οδηγεί σε συσσώρευση του γλυκογόνου σε αυτούς τους ιστούς και χαρακτηριστική υπογλυκαιμία νηστείας λόγω αδυναμίας καταβολισμού του [3]. Επίσης, χαρακτηριστική είναι η παρουσία κετονικών σωμάτων στον ορό και στα ούρα καθώς ενεργοποιούνται αντιροπτιστικοί μηχανισμοί για να καλυφθούν οι ενεργειακές απαιτήσεις των οργάνων [3]. Η παρουσία υπογλυκαιμίας, μεταβολικής οξέωσης, υπερλιπιδαιμίας και κετοναιμίας με ταυτόχρονα φυσιολογικές συγκεντρώσεις NH₃ και γαλακτικού οξέως αίματος είναι εργαστηριακό εύρημα των Γλυκογονιάσεων και τις διαφοροποιεί ως ένα βαθμό από άλλες κατηγορίες μεταβολικών νοσημάτων όπως διαταραχές των οργανικών και λιπαρών οξέων και των διαταραχών του κύκλου της ούριας [1]. Δυσκολία στην διαφοροδιάγνωση αφορά την ανεύρεση του συγκεκριμένου τύπου της νόσου. Η βιοψία ήπατος και μύος αποτελούσε την εξέταση εκλογής για την διάγνωση των Γλυκογονιάσεων [3]. Χαρακτηριστικό διαγνωστικό εύρημα στην βιοψία

ήπατος για την Γλυκογονίαση τύπου III είναι ότι όχι μόνο παρατηρείται αυξημένη συγκέντρωση γλυκογόνου στα ηπατοκύτταρα αλλά αυτό έχει και αλλοιωμένη δομή [7]. Η μέτρηση της δραστηριότητας του ενζύμου μπορεί να γίνει στα ερυθρά αιμοσφαίρια καθώς και σε καλλιέργειες δερματικών ινοβλαστών [3]. Από τις Γλυκογονιάσεις οι τύποι I, VI και IX πρέπει να διαφοροδιαγνωστούν από τον τύπο III [1]. Ο τύπος I έχει πιο πρώιμη και βαρύτερη κλινική εικόνα με συμπτωματική υπογλυκαιμία και χαρακτηριστική αύξηση της δραστηριότητας της Βιοτινιδάσης στο αίμα [1]. Από τους τύπους VI και IX μπορούσε να γίνει διαφοροδιάγνωση μόνο με μελέτη δραστηριότητας των ενζύμων στα ηπατοκύτταρα, ερυθρά κύτταρα ή τους ινοβλάστες [8]. Πλέον, η διαφοροδιάγνωση τους στηρίζεται σε μοριακή ανάλυση ανεύρεσης μεταλλάξεων στα γονίδια του κάθε τύπου. Συμφώνα με σύγχρονες οδηγίες του Αμερικανικού Κολλεγίου Γενετικής Ιατρικής η γονιδιακή μελέτη αποτελεί αξιόπιστη εναλλακτική της βιοψίας ήπατος με σαφή πλεονεκτήματα [3].

Η πλέον σύγχρονη τεχνική αφορά την καθολική γενετική μοριακή ανάλυση των βάσεων DNA του γονιδίου με τεχνικές όπως η PCR [9]. Σαν μέθοδος είναι ελάχιστα επεμβατική, καθώς απαιτεί μερικά ml ολικού αίματος, από το οποίο αφαιρείται και αναλύεται το DNA των λεύκων αιμοσφαιρίων. Επίσης, η μέθοδος αυτή πλεονεκτεί στο γεγονός ότι μπορεί να καθορίσει την γενετική επιβάρυνση προτού γίνει ορατή φαινοτυπικά [9]. Στην περίπτωση που περιγράψουμε η ακριβής γνώση των μεταλλάξεων μας βοήθησε να προβλέψουμε την νόσο στο κύημα της μητέρας και να δώσουμε την δυνατότητα επιλογής και γενετικής καθοδήγησης.

Το ανθρώπινο ένζυμο για την αποδόμηση των διακλαδισμένων αλύσεων του γλυκογόνου έχει μεγάλο μέγεθος (85kb) και περιλαμβάνει 35 εξόνια [2]. Μεταγράφεται σε mRNA με μέγεθος 7 kb, το οποίο μεταφράζεται σε μια πρωτεΐνη με 1532 αμινοξέα [2]. Πάνω από 50 διαφορετικές μεταλλάξεις έχουν περιγράψει στην βιβλιογραφία με την συχνότητα ανεύρεσης ορισμένων εξ' αυτών να συνοδεύει συγκεκριμένους εθνικούς πληθυσμούς, όπως τους Εβραίους και τους Ιάπωνες [10]. Η βιοψία ήπατος /μύος και η γονιδιακή ανάλυση αποτελούν και οι δυο αποδεκτές εναλλακτικές μέθοδοι στην διάγνωση της GSD III [3]. Στον ασθενή μας επιλέξαμε την γονιδιακή ανάλυση για δυο λόγους. Πρώτον είναι μια ελάχιστα επεμβατική μέθοδος και δεύτερον

μπορούσε να μας δώσει τις απαραίτητες πληροφορίες για γενετική καθοδήγηση των γονέων καθώς η μητέρα κυοφορούσε το δεύτερο παιδί της. Ένα επόμενο βήμα θα είναι η δυνατότητα εμφύτευσης προεπιλεγμένου υγιούς εμβρύου, αφού πλέον είναι γνωστές οι σημειακές μεταλλάξεις των γονέων – φορέων της νόσου. Η πρακτική αυτή συνίσταται και από το Αμερικανικό Κολλέγιο Γενετικής Ιατρικής [3]. Ο ασθενής βρέθηκε να είναι διπλός ετεροζυγώτης και οι μεταλλάξεις του απαντώνται πρώτη φορά στην βιβλιογραφία. Η πρώτη στο εξώνιο 28 κωδικόνιο 1310 c.3929G>A πατρικής καταγωγής και η δεύτερη στο εξώνιο 32 κωδικόνιο 1492 c.4474C>T) μητρικής καταγωγής. Και οι δυο αυτές μεταλλάξεις οδηγούν σε κωδικόνια πρόωρου τερματισμού της μεταγραφής του DNA στο mRNA, δηλαδή οδηγούν σε πρωτεΐνη με μικρότερο μέγεθος και αρά μη λειτουργικό ένζυμο. Ολοκληρώνοντας θα θέλαμε να τονίσουμε ότι παρά την σπανιότητα του νοσήματος, την κατάσταση διπλού ετεροζυγώτη και την περιγραφή νέων μεταλλάξεων στο γονίδιο AGL η μοριακή ανάλυση μας βοήθησε να καθοδηγήσουμε την

οικογένεια στην προγεννητική διάγνωση. Η Γλυκογονίαση τύπου III αποτελεί μια χρόνια νόσο που απαιτεί πολυδάπανες ειδικές διαιτητικές προσαρμογές, δια βίου ιατρική παρακολούθηση αλλά κυρίως έχει απρόβλεπτη κλινική εξέλιξη όσον αφορά την μυϊκή και καρδιακή συμμετοχή της. Οι συγγραφείς θα ήθελαν να προτείνουν την αναγκαιότητα αναθεώρησης της διαγνωστικής προσέγγισης αφού η μοριακή γονιδιακή ανάλυση προσφέρει μια σύγχρονη ασφαλή και αποτελεσματική μέθοδο. Ταυτόχρονα, προσφέρει συγκριτικά πλεονεκτήματα κυρίως για την γενετική καθοδήγηση επομένης κύησης αλλά και την δυνατότητα εμφύτευσης προεπιλεγμένου υγιούς εμβρύου.

Ευχαριστίες

Οι συγγραφείς θα ήθελαν να ευχαριστήσουν τους Prof. Arndt Rolfs MD Centogene GmbH Rostock Germany και Δρ. Χριστόφορο Γιατζάκη PhD DNAbiolab Ηράκλειο Κρήτης για την συμβολή τους στην διάγνωση των μεταλλάξεων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ozen H. Glycogen storage diseases: New perspectives. *World j Gastroenterology* 2007; 13:2541-2553
- Yang BZ, Ding JH, Enghild JJ et al. Molecular cloning and nucleotide sequence of cDNA encoding human glycogen debranching enzyme. *J Biol Chem* 1992; 267: 9294-9299
- Kishnani SP, Austin SL, Arn P et al. Glycogen storage disease type III diagnosis and management guidelines. *Genet Med* 2010; 12: 446-463
- Demo E, Frush D, Gottfried M et al. Glycogen storage disease type III-hepatocellular carcinoma a long-term complication? *J Hepatol*. 2007; 46: 492-8
- Moses SW, Wanderman KL, Myroz A et al. Cardiac involvement in glycogen storage disease type III. *Eur J Pediatr*. 1989; 148:764-6.
- Cabrera-Abreu J, Crabtree NJ, Elias E et al. Bone mineral density and markers of bone turnover in patients with glycogen storage disease types I, III and IX. *J Inherit Metab Dis*. 2004; 27:1-9.
- Maire I, Baussan C, Moatti N et al. Biochemical diagnosis of hepatic glycogen storage diseases: 20 years French experience. *Clin Biochem*. 1991; 24:169-78.
- Shaiu WL, Kishnani PS, Shen J et al. Genotype-phenotype correlation in two frequent mutations and mutation update in type III glycogen storage disease. *Mol Genet Metab*. 2000; 69:16-23.
- Endo Y, Horinishi A, Vorged M et al. Molecular analysis of the AGL gene: Heterogeneity of mutations in patients with glycogen storage disease type III from Germany, Canada, Afganistan, Iran and Turkey. *J Hum Genet* 2006; 51:958-63
- Shen JJ, Chen YT. Molecular characterization of glycogen storage disease type III. *Curr Mol Med* 2002; 2: 167-75

CASE REPORT**A novel mutation in the Glycogen storage disease type III gene****K Tziouvas, G Triantafyllidis, E. Xenou, T Tsaprouni, I Papandreou, Z Gerle**

Paediatric Department, "Tzaneio" General Hospital of Piraeus, Greece

(Scientific Chronicles 2012;17(2):100-104)**ABSTRACT**

Glycogen storage disease (GSD) III is a rare AR disease. The disease results from deficient glycogen debrancher enzyme activity. The responsible gene (AGL) is located on 1p21. The deficiency of the enzyme leads to accumulation of glycogen in liver and muscles.

We report an 18 months year old male toddler who was evaluated for hepatomegaly in our department. His basic biochemical profile showed asymptomatic hepatitis. After we excluded infectious and autoimmune causes we searched for a metabolic disease. We performed a fasting challenge test to evaluate his biochemical response. He developed significant asymptomatic hypoglycemia and acidosis. The clinical findings and the biochemical profile were indicative of a carbohydrates metabolic disease.

We performed full AGL gene sequence analysis by PCR of both DNA strands of the entire coding region and the highly conserved exon- intron splice junctions. We found two heterozygous mutations in the AGL gene (c.3929G>A p.W1310X and c.4474C>T p.Q1492X). Both of them have not been described in the literature so far, but create STOP codons.

DNA gene sequence analysis by PCR provides an alternative safe and highly reliable method to diagnose GSD III. In addition provides essential information for genetic counseling.

Keywords: Glycogen storage disease, AGL, hepatomegaly.

(Submitted: 20/3/12, Accepted: 3/4/12)