REVISIÓN DE TEMA

Problemas del embarazo relacionados con errores hereditarios de la b-oxidación mitocondrial fetal

*José Henry Osorio O.**

Recibido: Marzo 26/2001 - Revisado: Mayo 23/2001 - Aceptado: Agosto 24/2001

RESUMEN

Hace algún tiempo fue reportado que errores hereditarios en la oxidación de ácidos grasos en el feto, pueden predisponer a complicaciones de la madre durante el embarazo. El campo de los errores innatos del metabolismo crece permanentemente como resultado del reporte continuo de nuevas enfermedades en diferentes vías metabólicas, ayudado por el auge en investigación y tecnología desarrollado en el área. El presente trabajo, revisa la interrelación entre los errores hereditarios de la b-oxidación mitocondrial de los ácidos grasos en fetos homocigotos, o heterocigotos compuestos y el embarazo de madres heterocigotas para las mismas deficiencias.

PALABRAS CLAVE: Embarazo, enfermedad hepática, b-oxidación de los ácidos grasos.

SUMMARY

Some time ago it was reported that inherited disorders for the fetal fatty oxidation can predispose to maternal complications during the pregnancy. The inherited metabolic diseases group is permanently increasing as a result of many reports of cases related to alterations in several metabolic pathways, helping the advance of research and technology developed in this field. The present work reviews the interrelation between the inherited disorders of the fatty acid mitochondrial b-oxidation for homozygous or compound heterozygote fetus and the pregnancy in heterozygote mothers for the same deficiencies.

KEY WORDS: Pregnancy, liver disease, fatty acid b-oxidation.

INTRODUCCIÓN

Los errores innatos del metabolismo usualmente son el resultado de defectos enzimáticos o cofactores, en su mayoría autosómico recesivos y como resultado, las características de la enfermedad son la consecuencia de la acumulación de metabolitos anormales que pueden ser detectables en fluidos corporales y tejidos de los pacientes afectados.

El diagnóstico diferencial de dichas enfermedades puede ser difícil aún en presencia de tecnologías avanzadas. El principal objetivo de tal análisis es la identificación de la causa de la alteración metabólica, la cual puede ser temporal

(adquirida) o recurrente (hereditaria), y eventualmente llegar a un posible diagnóstico mediante pruebas más avanzadas, las que pueden incluir ensayos enzimáticos o de biología molecular.

Ciertos errores hereditarios de la b-oxidación mitocondrial han sido descritos asociados con "hígado graso agudo del embarazo" AFLP (acute fatty liver of pregnancy), preeclampsia, y con síndrome HELLP (haemolysis, elevated liver enzymes, low platelets). AFLP es de presentación poco común, pero a la vez, una seria complicación del embarazo, la cual puede estar asociada con preeclampsia en algunos casos ¹, aunque la AFLP es catalogada clínica e histológicamente como una entidad diferente ², presentando un espectro clínico que va desde enfermedad subclínica hepática, hasta fallo hepático agudo ³, con una incidencia aproximada desde entre 1 en 5.000 hasta 13.000 nacimientos ⁴, el cual ocurre en etapas avanzadas de la gestación ⁵. Las manifestaciones

* Profesor Asociado. Universidad de Caldas. Manizales. Colombia. Instituto de Bioquímica Clínica. Centre Universitari. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona. España.

clínicas de AFLP sin tratamiento son de progresión rápida en un curso variable de horas hasta días de fallo hepático, hipoglucemia, hiperamonemia, fallo renal, coagulopatía con hemorragias uterinas y de tracto gastrointestinal, y coma⁶. Mediante rápida intervención, ocurre mejoría en los 2 a 3 días posteriores al parto sin secuelas hepáticas³. La preeclampsia es una complicación común en el embarazo, ocurriendo en cerca de un 10% de los embarazos, y cerca de un 10% de pacientes preeclámplicas desarrollan HELLP, asociado con una morbilidad significativa⁷.

En el presente artículo, una revisión de los errores hereditarios de la b-oxidación mitocondrial es realizada, y posteriormente, la relación de su presencia en el feto con posibles trastornos ocasionados a la madre heterocigota gestante es descrita.

DEGRADACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS

Los ácidos grasos son la mayor fuente de energía para el corazón y el músculo esquelético, y uno de los más importantes procesos para la producción de combustible metabólico durante el ejercicio prolongado y el ayuno⁸⁻⁹. El estudio de su degradación biológica fue realizado en 1904 cuando Knoop mediante experimentación en caninos desarrolló la teoría de la b-oxidación¹⁰. Esta vía es responsable de la degradación de ácidos grasos produciendo acetil-CoA. La oxidación de los ácidos grasos se encuentra acoplada dentro de la mitocondria al ciclo del ácido cítrico y a la fosforilación oxidativa¹¹.

La mayoría de los tejidos son capaces de degradar ácidos grasos a CO₂ y H₂O, pero el hígado es el único con capacidad de sintetizar cuerpos cetónicos, acetoacetato y 3-hidroxibutirato, a partir de acetil-CoA, aportando combustible a tejidos extrahepáticos, principalmente al cerebro¹². El proceso de degradación de ácidos grasos en la mitocondria incluye la captación celular del ácido graso, su activación a ésteres de acil-CoA, transesterificación a acilcarnitinas, translocación a través de la membrana mitocondrial, re-esterificación a ésteres de acil-CoA, y la espiral de la b-oxidación mitocondrial, generando electrones los cuales son transferidos a una flavoproteína para la transferencia de electrones, y acetil-CoA la cual es convertida a cuerpos cetónicos en el hígado¹³.

Peroxisomas y gliosixomas, colectivamente referidos como microcuerpos, son organelas subcelulares con capacidad para respirar. Ellos no tienen un sistema energético acoplado al transpor-

te de electrones como la mitocondria, pero contienen flavino-oxidasas, las cuales catalizan la reducción de oxígeno dependiente de un sustrato a H₂O₂. Poco tiempo después de la identificación de la b-oxidación peroxisomal en animales la vía fue elucidada, y las enzimas purificadas y caracterizadas. Los ácidos grasos son activados por acil-CoA sintetasa en la membrana del peroxisoma¹⁴ y su entrada al interior de la organela es independiente de carnitina¹¹. Los sustratos preferiblemente oxidados en peroxisomas incluyen ácidos grasos de cadena muy larga, ácidos grasos poliinsaturados, ácidos dicarboxílicos, prostaglandinas, eicosanoides, ácido pristánico, intermediarios de ácidos biliares, y cadenas laterales de xenobióticos las cuales no son metabolizadas o son pobremente metabolizadas por la mitocondria¹⁵, y la cadena lateral del colesterol¹⁶.

VÍA DE LA b-OXIDACIÓN MITOCONDRIAL (Figura 1) EL CICLO DE LA CARNITINA

Los ácidos grasos son movilizados desde el tejido adiposo y transportados en la circulación unidos a la albúmina. La captación de los ácidos grasos por el tejido y su transporte desde la membrana celular hasta la mitocondria todavía son pobremente entendidos. Los transportadores de ácidos grasos (FATP) de fatty acid transporters, y las proteínas citosólicas de unión de los ácidos grasos (FABP) de fatty acid binding protein, están probablemente involucradas en este proceso¹⁷.

Para la b-oxidación mitocondrial, los ácidos grasos de cadena larga son activados en el citosol a sus ésteres de CoA por la acil-CoA sintetasa. La membrana interna mitocondrial es impermeable a ésteres de acil-CoA. Su entrada en la mitocondria es mediada por el sistema de transporte de la carnitina, el cual de manera reversible cataliza la reacción: palmitoil-CoA + carnitina $\rightleftharpoons$ palmitoilcarnitina + CoA-SH¹⁰. La carnitina es introducida a las células a través del transportador de carnitina (CT) de carnitine transporter, ubicado en la membrana celular, y tres enzimas: carnitina palmitoiltransferasa I (CPT I), carnitina-acilcarnitina translocasa (CACT) y carnitina palmitoiltransferasa II, las cuales son las responsables de la mencionada reacción¹⁸.

La regulación de la oxidación mitocondrial de ácidos grasos principalmente involucra la CPT I. En el hígado, CPT I controla el flujo de ácidos grasos hacia la esterificación y vías oxidativas debido a su sensibilidad al malonil-CoA, un poten-

te inhibidor de la CPT I, el que a su vez es el primer intermediario en la biosíntesis de ácidos grasos. Durante el ayuno, los niveles de malonil-CoA disminuyen, y la CPT I se encuentra desinhibida, entonces los ácidos grasos de cadena larga (LCFA) de long-chain fatty acids, y subsecuentemente la cetogénesis mejora. Durante los estados postabsortivos, la concentración de malonil-CoA se incrementa, inhibiéndose la actividad de la CPT I¹⁹. Los ácidos grasos de menos de 12 átomos de carbono, tales como los que son aportados por triglicéridos de cadena media de la dieta, pueden ingresar a la mitocondria y son activados dentro de la matriz mitocondrial independientemente del sistema del transporte de carnitina²⁰.

ESPIRAL DE LA β -OXIDACIÓN

Una vez al interior de la mitocondria, el acil-CoA ácido graso es degradado a través de cuatro reacciones. El acil-CoA ácido graso de cadena larga es oxidado por dos enzimas unidas al interior de la membrana mitocondrial: acil-CoA deshidrogenasa de ácido graso de cadena muy larga (VLCAD) de very long-chain acyl-CoA deshydrogenase, y enoil-CoA hidratasa / 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa / 3-Ketoacil-CoA thiolasa (proteína trifuncional-TFP de *trifunctional protein*)²¹.

Figura 1.

Vía de la β -oxidación mitocondrial. C.T., transportador de carnitina, CPT I, carnitina palmitoiltransferasa I, CACT, carnitina/acil-carnitina translocasa, CPT II, carnitine palmitoiltransferasa II, VLCAD, acil-CoA deshidrogenasa de ácidos grasos de cadena muy larga; TFP, proteína trifuncional; ETF-DH, deshidrogenasa de la flavoproteína de transferencia de electrones, ETF ox-red, oxidoreductasa de la flavoproteína de transferencia de electrones, CoQ, coenzima Q. HAD, hidroxilacil-CoA deshidrogenasa, OT, oxoacil-CoA tiolasa. TCA, ciclo de los ácidos tricarboxílicos.

Tabla 1. Errores congénitos de la β -oxidación mitocondrial

Deficiencia Enzimática	Acrónimo	Año	McKusick	Presentación	Sub-unidad (kda)	Localización	Mutación prevalente
Transportador de carnitina	CUD	1988	—	3M to 7a	63	—	—
Carnitina palmitoil transferasa I Hígado Músculo	CPTI	1980	255120	1 M to 18 M	88 82	11q13	—
Carnitina / acil-carnitine translocasa	CACT	1992	212138	N	32.5	3p21.31	—
Carnitina palmitoil transferasa II Adulto	CPTII	1973	255110	A		1p32 1p32	439ct 2399 A > T
Infantil		1991		N to 2a			
Acil-CoA deshidrogenasa de ácido graso de cadena muy larga	VLCAD	1992	201475	N to 8a	66	17p11.2-p11.13	—
Acil-CoA deshidrogenasa de ácido graso de cadena media	MCAD	1976	201450	N to 14a	44	1p31	985 A > G
Acil-CoA deshidrogenasa de ácido graso de cadena corta	SCAD	1987	201470		44	12q22-qter	—
Infantil (Generalizada)				N			
Adulto (Muscular)				A			
3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa de ácido graso de cadena larga	LCHAD	1988	143450	N to 3a	79	2p23	subunidad 1528 G > C
2-enoil-CoA hidratasa de ácido graso de cadena larga							
3-oxoacil-CoA tiolasa de ácido graso de cadena larga (Proteína Trifuncional)							
3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa de ácido graso de cadena corta	SCHAD	1991		16a	164	—	—
Flavoproteína para transferencia de electrones (ETF) (-subunidad GA IIA) (-subunidad GA IIB)	ETF	1985	231675	N o edad media	57	ETF- β :19q-13.3 ETF- α :19q23-q25	— —
ETF deshidrogenasa (GA II)	ETFD	1985	231675	—	—	—	—
2,4-Dienoil-CoA reductasa	DR	1990	—	N	124	8q21.3	—

Abreviaciones: N, neonatal; M, meses; a, años; A, adulto.

Nota: las estructuras de algunas enzimas han sido identificadas: Homo tetrámero: MCAD, SCAD, DR; Homodímero: VLCAD; Heterooctámero: LCHAD; Homohexámero: SCHAD; Heterodímero: ETF (Bartlett *et al* 1998). Las frecuencias de la mutación prevalente (%) reportadas para CPT II forma adulta, MCAD, y LCHAD son 60, 90, y 87 respectivamente²³.

OXIDACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS CON DOBLES ENLACES

La oxidación de ácidos grasos insaturados requiere de enzimas auxiliares. D3,D2-enoil-CoA isomerasa y 2,4-dienoil-CoA reductasa, son las enzimas auxiliares para la β -oxidación de los ácidos grasos con dobles enlaces. La isomerasa cataliza la isomerización de ambos 3-cis and 3-trans - enoil - CoAs a 2 - trans - enoil - CoAs. Enoil-

CoA isomerasas para sustratos de cadena corta, media y larga han sido identificadas y una isoforma de 2,4-dienoil-CoA reductasa ha sido reportada²².

ERRORES HEREDITARIOS DE LA β -OXIDACIÓN MITOCONDRIAL

Todos los defectos identificados de la β -oxidación mitocondrial son autosómico recesivos y sus manifestaciones clínicas son el resultado de la

inhabilidad de los tejidos para oxidar ácidos grasos para responder a las demandas incrementadas de energía; por lo tanto, los órganos blanco de los defectos de la oxidación de ácidos grasos incluyen músculo esquelético y cardíaco, así como el hígado, con hipoglucemia hipocetótica en casi todos ellos lo cual usualmente ocurre siguiendo a cualquier enfermedad intercurrente y ocasionalmente pueden verse después de ayunos cortos o la realización de ejercicio físico.

La tabla 1 muestra la abreviatura para cada enfermedad, el año de primeros reportes, la clasificación, la edad de presentación, y aspectos moleculares de los errores hereditarios de la b-oxidación mitocondrial. Hasta ahora, la mayoría de síntomas y signos para los pacientes clínicamente sospechosos de presentar alteraciones en esta vía, han sido identificados. Hepatomegalia es observada en CUD, CPT I, VLCAD, y GA II; cardiomiopatía está presente en CUD, CACT, CPT II, MCAD, LCHAD, con cardiomiopatía e infiltración lipídica en LCHAD; la debilidad muscular es característica en CUD, CACT, CPT II, y la miopatía con infiltración lipídica en SCAD forma muscular y LCHAD; hipotonicidad puede ser encontrada en SCAD, GA II and DR; mioglobulinuria en CPT II; coma en VLCAD y MCAD, así como síndrome de muerte súbita infantil (SIDS de sudden infantile death syndrome) en CACT y MCAD; pueden ser frecuentes las convulsiones en CUD y SCAD forma infantil; episodios Reye-like en LCHAD y SCHAD han sido observados. Además otros signos como tubulopatía y nefropatía en CPT I; nefromegalia y rabdiomiólisis en CPT II; retardo en el desarrollo in SCAD forma infantil; retinitis pigmentosa y neuropatía periférica en LCHAD; olor a pie dulce en GA II; y dimorfismo facial, disquinesia, megacefalia, distonía y quistes renales en DR, han sido reportados²⁴⁻²⁷.

La hipoglucemia hipocetótica está presente en todas ellas, excepto en la forma adulta de la CPT II y DR. La forma infantil de SCAD muestra hipoglucemia sin hipocetonemia, y en la forma adulta de la misma deficiencia, hipocetonemia sin hipoglucemia. La relación cuerpos cetónicos/ácidos grasos no esenciales es baja en todos los desórdenes excepto para la CPT II forma adulta y la SCAD forma infantil en las cuales es normal, y en la forma adulta de SCAD en la cual es alta.

En general los errores de la oxidación de ácidos grasos deben estar siempre en el diagnóstico de una hipoglucemia inexplicable, acidosis metabólica, Reye-like síndrome, miopatía, mioglobulinuria recurrente y cardiomiopatía²⁸.

Los hallazgos de laboratorio refuerzan el diagnóstico clínico, los niveles de metabolitos intermediarios en orina (glucosa, cuerpos cetónicos, lactato, piruvato), y sangre (ácidos grasos no esterificados)²⁹; perfil de ácidos orgánicos en orina³⁰; análisis de carnitina libre y total en plasma y suero³¹⁻³², estudio de acilcarnitinas en sangre³³; medidas de la actividad enzimática y de intermediarios de la vía metabólica en leucocitos y cultivos celulares³⁴⁻³⁵, y análisis de DNA³⁶ son usados para confirmar el diagnóstico de alguna alteración.

EMBARAZO Y ERRORES HEREDITARIOS DE LA b-OXIDACIÓN MITOCONDRIAL FETAL

A comienzos de la década de los 90, el caso de una paciente de 29 años de edad quien presentó dos episodios agudos de hígado graso durante la gestación fue descrito³⁶. Las manifestaciones clínicas fueron hemorragia ante parto, signos de compromiso hemodinámico y cuadro de dos semanas de evolución de malestar general, náusea, vómito y letargia, ictericia y dolor abdominal, y reducción de los movimientos fetales, sin previos cuadros de proteinuria o elevaciones de la presión arterial, durante los controles de rutina, sin antecedentes familiares sugestivos de enfermedad relacionada. La paciente no consumía alcohol, tabaco o algún medicamento y solamente riboflavina le fue suministrada después de la semana 30 de embarazo durante la segunda gestación.

Estos episodios se desarrollaron en dos embarazos sucesivos a las 33 y 32 semanas de gestación respectivamente, y mediante biopsia hepática, el diagnóstico de AFLP fue confirmado al término de la segunda gestación.

Ambos embarazos fueron manejados con término precoz de los mismos, y los cambios hepáticos se resolvieron totalmente después del nacimiento de los bebés. Dos niños saludables fueron el producto de ambas cesáreas, pero ambos desarrollaron rápida y progresivamente signos devastadores de una, no descrita enfermedad, lo que condujo a su muerte a la edad de 6.5 y 6 meses, respectivamente.

En 1993, después de conocida la deficiencia de LCHAD, fueron reportados 11 embarazos en 5 madres, en los cuales 6 productos sufrían deficiencia de LCHAD y cada una de sus gestaciones presentó complicaciones, caracterizadas por hígado graso y HELLP, algunas de las mismas madres dieron a luz hijos sanos y sus embarazos

no presentaron complicación alguna, lo que llevó a postular que podrían existir efectos adversos sobre la función hepática materna en embarazos de fetos con deficiencia de LCHAD³⁸.

Otras investigaciones sobre AFLP, mostraron su presentación entre la semana 31 y 38 de gestación, con una resolución total del cuadro en las 4 semanas posteriores al nacimiento, pero aunque observaron una supervivencia reducida de los recién nacidos (58.3%), atribuyeron un papel preponderante a una asociación epidemiológica del AFLP con colestasis intra hepática del embarazo³⁹. Las bases moleculares de la relación AFLP y LCHAD fueron posteriormente reportadas⁴⁰⁻⁴¹ y la relación entre madres portadoras de la mutación fue estudiada, concluyendo que un subgrupo significativo de mujeres con AFLP son heterocigotas para la deficiencia LCHAD⁴² y que puede existir relación con la deficiencia de la totalidad del componente TFP⁴³. Según los últimos reportes, un fenotipo poco común en homocigotos para la deficiencia de LCHAD en el niño puede manifestarse con hipocalcemia aguda, deficiencia de vitamina D, e inexplicada colestasis hepática, asociada con preeclampsia de la madre durante el embarazo⁴⁴. Se concluye entonces que este tipo de desórdenes se presentan en madres heterocigotas que se encuentran en embarazo de una feto afectado de la deficiencia. Sin embargo, recientemente fue reportado el caso de una madre, la cual desarrolló AFLP con hiperemesis gravidarum en dos embarazos consecutivos, pero ni la madre, ni los niños, eran portadores de la mutación G1528C, característica de la deficiencia LCHAD; no obstante subsecuentemente ambos niños resultaron ser deficientes de CPT I⁴⁵.

Posteriormente, reportes de otros autores han mostrado AFLP en TFP, y posiblemente asociado con SCAD; HELLP posiblemente asociado con MCAD y SCAD; preeclampsia posiblemente asociada a CPT I, CACT; así como infarto del piso de la placenta, posiblemente asociado a LCHAD⁴⁶, con lo cual la lista de alteraciones en el embarazo inherentes a errores de la β-oxidación mitocondrial, sigue en aumento.

Las pacientes heterocigotas para estas deficiencias, muestran un alto riesgo de presentar un defecto parcial de la oxidación de ácidos grasos con descompensación metabólica, debido a la hipertrigliceridemia del tercer trimestre y todos sus componentes⁴⁷, lo que predispone a diferentes grados de colestasis². Además, durante la preeclampsia, la peroxidación de productos lipídicos está aumen-

tada y la vitamina E, conocido antioxidante, se encuentra reducido⁴⁸ aumentando así el riesgo de descompensación.

La patogénesis es entendida al presentarse un 50% de disminución en la oxidación de ácidos grasos de cadena larga en la madre heterocigota, la constante demanda en oxidación de ácidos grasos para proveer sustratos al feto, una disminución en la eficiencia de oxidación de ácidos grasos en el tercer trimestre del embarazo, y la transferencia hacia la madre, de los metabolitos tóxicos de ácidos grasos de cadena larga (3-OH-acilcarnitinas, -CoAs y ácidos dicarboxílicos), desde el feto afectado, a través de una deteriorada unidad feto-placentaria, generando daño hepático⁴⁹⁻⁵⁰. El hallazgo patológico en AFLP es de esteatosis micro vesicular y anomalías mitocondriales similares al síndrome de Reye, toxicidad por valproato⁵¹, y errores de la oxidación de ácidos grasos⁵². La distribución de la necrosis hepática y la vacuolización, así como la cantidad de grasa disminuida usualmente distinguen la preeclampsia del AFLP⁵³, es por eso que algunos estudios solo consideran el diagnóstico de AFLP después de ser confirmado por ultrasonografía o biopsia⁵⁴.

Es importante por lo tanto implementar las técnicas diagnósticas para errores hereditarios del metabolismo, ya que en el caso específico de AFLP en madres heterocigotas para deficiencias de LCHAD o CPT I, el riesgo de presentación de la entidad en futuros embarazos, de un feto homocigoto o heterocigoto compuesto es del 25%⁵⁵, además se pueden prevenir, o disminuir las manifestaciones clínicas de la enfermedad en los niños afectados.

REFERENCIAS

1. Rilely C.A. Acute fatty liver of pregnancy. *Semin. Liver. Dis.* 1987; 7: 47-54.
2. Fallon H.J., Riely C.A. Liver diseases. In: Burrow G.N.; Ferris T.F. (eds) *Medical complications during pregnancy*. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1995; pp. 307-342.
3. Riely C.A. Liver diseases in pregnancy. In: Kaplowitz. (ed) *Liver and biliary diseases*. William & Wilkins, Baltimore. 1992; pp. 432-441.
4. Kaplan M.M. Acute fatty liver of pregnancy. *N. Engl. J. Med.* 1985; 313: 367-370.
5. Davies M.H., Wilkinson S.P., Hanid M.A., et al. Acute liver disease with encephalopathy and renal failure in late pregnancy and early puerperium-a study of fourteen patients. *Br. J. Obstet. Gynecol.* 1980; 87: 1005-1014.
6. Ockner S.A., Brunt E.M., Cohn S.M., et al. Fulminant hepatic failure caused by acute fatty liver of pregnancy treated by orthotopic transplantation. *Hepatology*. 1990; 11: 59-64.
7. Sibai B.M., Ramadan M.K., Usta I., et al. Maternal morbidity and mortality in 442 pregnancies with hemolysis, elevated liver

- enzymes, and low platelets. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1993; 169: 1000-1006.
8. Alberty R., Albertyová D. Biological variation of free and total carnitine in serum of healthy subjects. *Clin. Chem.* 1997; 43: 12: 2441-2443.
 9. Bennet M.J., Rinaldo P., Strauss A.W. Inborn errors of mitochondrial fatty acid oxidation. *Clin. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2000; 37: 1: 1-44.
 10. Goodridge A.G. Regulation of fatty acids synthesis in isolated hepatocytes prepared from the livers of neonatal chicks. *J. Biol. Chem.* 1971; 248: 1924-1931.
 11. Schultz H. Oxidation of fatty acids in: *Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes.* Elsevier Science. Vance D.E. ed. 996. pp. 75.
 12. Nordlie R.C., Foster J.D. Regulation of glucose production by the liver. *Annu. Rev. Nutr.* 1999; 19: 379-406.
 13. Daum G., Vance J.E. Import of lipids into mitochondria. *Prog. Lipid Res.* 1997; 36:103-130.
 14. Hashimoto T. Peroxisomal β -oxidation: Enzymology and molecular biology. *Annals N.Y. Acad. Sci.* 1997; 811: 86-98.
 15. Hashimoto T. Peroxisomal β -oxidation enzymes. *Neurochemical Research.* 1999; 24(4): 551-563.
 16. Lazarow P.B., Moser H.W. Disorders of peroxisome biogenesis. In : Scriver C.R., Beaudet A.L., Sly W., Valle D. (eds). *The metabolic and molecular bases of inherited metabolic diseases.* 7th ed. New York : Mc Graw-Hill. 1995; Pp. 2287-2324.
 17. Hamilton J.A. Fatty acid transport: difficult or easy? *J. Lipid Res.* 1998; 39: 467-481.
 18. Brivet M., Boutron A., Slama A., et al. Defects in activation and transport of fatty acids. *J. Inher. Metab. Dis.* 1999; 22: 428-44.
 19. Eaton S., Bartlett K., and Pourfarzam M. Mammalian mitochondria β -oxidation. *Biochem. J.* 1996; 320: 345-357.
 20. Sue C.M., Hirano M., DiMauro S., et al. Neonatal presentations of mitochondrial metabolic disorders. *Seminars in perinatology.* 1999; 23(2): 113-124.
 21. Rasmussen B.B., Wolfe R.R. Regulation of fatty acid oxidation in skeletal muscle. *Annu. Rev. Nut.* 1999; 19: 463-484.
 22. Verhoeven N.M. Jakobs C., Ten Brink H.J., et al. Studies on the oxidation of phytanic acid and pristanic acid in human fibroblasts by acylcarnitine analysis. *J. Inher. Metab. Dis.* 1998; 21: 753-760.
 24. Ribes A., Briones P., Rodés M. Advances in biochemistry in the understanding of neurometabolic disorders. *Rev. Neurol.* 1999; 28: 161: 11-15.
 25. Bonnefont J.P., Demaugre F., Prip-Buus C., et al. Carnitine palmitoyltransferase deficiencies. *Mol. Gen. Metabolism.* 1999; 68: 424-440.
 26. Isada N.B., Martin L.S., Evans M.I. Prenatal diagnosis in the molecular age. In: *Neonatology.* Avery, Fletcher M.E., McDonald M.G (eds). 5th ed. Lippincott Williams and Wilkins. London. 1999; pp. 111-123.
 27. Roe Ch. And Coates M. Mitochondrial fatty acid oxidation disorders. In: *The metabolic and molecular bases of inherited disease.* CD-ROM. de. Scriver C.R., Beaudet A.L., Sly W.S., Valle D. (editors). McGraw-Hill. New York. 1997; Ch 45.
 28. Lteif A.N., Schwenk W.F. Hypoglycemia in infants and children. *Endocrinology and metabolism clinics of North America.* 1999; 28(3): 619-648.
 29. Moser H.W., Moser A.B. Measurement of saturated very long chain fatty acids in plasma in: *Techniques in diagnostic Human Biochemical Genetics: a laboratory manual.* Wiley-Liss, inc. 1991; pp. 177-192.
 30. Greter J., Jacobson C-E. Urinary organic acids: isolation and quantification for routine metabolic screening. *Clin. Chem.* 1987; 33(4): 473-480.
 31. Stevens R.D., Hillman S.L., Worthy S., et al. Assay for free and total carnitine in human plasma using tandem mass spectrometry. *Clin. Chem.* 2000; 46: 727-729.
 32. Osorio J.H., Pourfarzam M. Plasma free and total carnitine in children measured by tandem mass spectrometry. 2001. In preparation.
 33. Millington D.S., Chace D.H., Hillman S.L., et al. Diagnosis of Metabolic Disease. *Diagnosis of metabolic disease.* In: Matsudo T., Capriolo R.M., Gross M.L., Sevama Y. (eds). *Biological Mass Spectrometry: Present and Future.* 1994; pp. 559-579.
 34. Pourfarzam M., Schaefer J., Turnbull D.M., et al. Analysis of Fatty Acid Oxidation Intermediates in Cultured Fibroblasts to Detect Mitochondrial Oxidation Disorders. *Clin. Chem.* 1994; 40/12: 2267-2275.
 35. Schaefer J., Pourfarzam M., Bartlett K., et al. Fatty acid oxidation in peripheral blood cells: characterization and use for the diagnosis of fatty acid oxidation. *Pediatr. Res.* 1995; 37: 345-360.
 36. Ziadeh R., Hoffman E.P., Finegold D.N. Medium Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency in Pennsylvania: Neonatal Screening Shows High Incidence and Unexpected Mutation Frequencies. *Pediatric Research.* 1995; 37/5: 675-678.
 37. Schoeman M.N., Batey R.G., Wilcken B. Recurrent acute fatty liver of pregnancy associated with a fatty-acid oxidation defect in the offspring. *Gastroenterology.* 1991; 100: 544-548.
 38. Wilcken B., Leung K.C., Hammond J., et al. Pregnancy and fetal long-chain 3-hydroxyacyl coenzyme A dehydrogenase deficiency. *Lancet.* 1993; 341: 408-410.
 39. Reyes H. Sandoval L., Wainstein A., et al. Acute fatty liver of pregnancy: a clinical study of 12 episodes in 11 patients. *Gut.* 1994; 35: 101-106.
 40. Treem W.R., Rinaldo P., Hale D.E., et al. Acute fatty liver of the pregnancy and long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Hepatology.* 1994; 19: 339-345.
 41. Sims H.F., Brackett J.C., Powell C. K., et al. The molecular basis of pediatric long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency associated with maternal acute fatty liver of pregnancy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995; 92: 841-845.
 42. Treem W.R., Shoup M.E., Hale D.F., et al. Acute fatty liver of pregnancy, hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets syndrome, and long chain 3-hydroxyacyl _Coenzyme A dehydrogenase deficiency. *Am. J. Gastroenterology.* 1996; 91(11): 2292-2300.
 43. Isaacs J.D., Sims H.F., Poell C.K., et al. Maternal acute fatty liver of pregnancy associated with fetal trifunctional protein deficiency: molecular characterization of a novel maternal mutant allele. *Pediatric Research.* 1996; 40(3): 393-398.
 44. Ibdah J.A., Dasouki M.J., Strauss A.W. Long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency: variable expresivity of maternal illness during pregnancy and unusual presentation with infantile cholestasis and hypocalcemia.
 45. Innes A.M., Seargeant K., Balachandra C.R., et al. Hepatic carnitine palmitoyltransferase I deficiency presenting as maternal illness in pregnancy. *Pediatr. Res.* 2000; 47: 43-45.
 46. Rinaldo P., Studinski L., Matern A. Prenatal diagnosis of disorders of fatty acid transport and mitochondrial oxidation. *Prenat. Diagn.* 2001; 21: 52-54.
 47. Osorio J.H. Metabolismo de los lípidos durante el embarazo. *Rev. Col. Obstet. Ginec.* 2000; 51(2): 113-117.
 48. Wickens D., Wilkins M.H., Lunec J., et al. Free-radical oxidation (peroxidation) products in plasma in normal and abnormal pregnancy. *Ann. Clin. Biochem.* 1981; 18: 158-162.
 49. Eisele J.W., Barker E.A., Smuckeler E.A. Lipid content in the liver of fatty metamorphosis of pregnancy. *AM.J. Pathol.* 1975; 81: 545-560.

50. Tein I. Metabolic disease in the fetus predisposes to maternal hepatic complications of pregnancy. *Pediatr. Res.* 2000; 47: 1.
51. Dreifuss F.E., Larger D.H., Moline K.A., et al. Valproic acid hepatic fatalities. II. US experience since 1984. *Neurology.* 1989; 39: 201-207.
52. Tein I. Metabolic myopathies. In: Bodensteiner J.B., Goebel H.H. (eds). *Seminars in pediatric neurology volume 3.* W.B. Saunders Co., Philadelphia. 1996; 59-98.
53. Barton J.R., Riely C.A., Adamec T.A., et al. Hepatic histopathologic condition does not correlate with laboratory abnormalities in HELLP syndrome (hemolysis, elevated enzymes, and low platelet count). *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1992; 167: 1538-1543.
54. Tyni T. Pregnancy complications are frequent in long-chain-3-hydroxyacyl CoA deficiency. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1998; 178: 603-608.
55. Hale D.E., Bennet M.J. Fatty acid oxidation disorders: a new class of metabolic diseases. *J. Pediatr.* 1992; 121: 1-11.