



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
SECRETARÍA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA**

**EFFECTO DE LOS ÁCIDOS GRASOS POLI-INSATURADOS
DE CADENA LARGA (LC-PUFAS) SOBRE LA SALUD DEL
LACTANTE: REVISIÓN SISTEMÁTICA CON META-
ANÁLISIS**



**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE
ESPECIALISTA EN PEDIATRÍA
P R E S E N T A
DRA. MARLENE ALEJANDRA RUIZ CASTILLO**

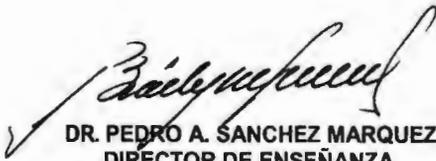


**TUTOR DE TESIS:
DR. PEDRO GUTIÉRREZ CASTRELLÓN**

MÉXICO, D.F.

2004

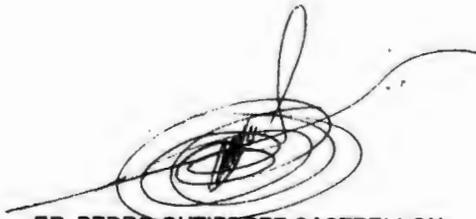
Efecto de los ácidos grasos poli-insaturados de cadena larga (LC-PUFAS) sobre la salud del lactante: Revisión sistemática con meta-análisis



DR. PEDRO A. SANCHEZ MARQUEZ
DIRECTOR DE ENSEÑANZA
PROFESOR TITULAR DEL CURSO



DR. LUIS HESHIKI NAKANDAKARI
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE
ENSEÑANZA DE PRE Y POSGRADO



DR. PEDRO GUTIERREZ CASTRELLON
TUTOR DE LA TESIS

Efecto de los ácidos grasos poli-insaturados de cadena larga (LC-PUFAS) sobre la salud del lactante: Revisión sistemática con meta-análisis

RESUMEN

Justificación: Los ácidos grasos n-3 y n-6 linolénico y linoleico se consideran precursores de los ácidos grasos de cadena larga n-3 y n-6 (LCPUFAs). Las fórmulas infantiles han contenido históricamente solo los precursores de dichos ácidos grasos. Existe actualmente controversia de si los LCPUFA son también nutrientes esenciales en la infancia.

Objetivos: El objetivo de esta revisión fue evaluar si la suplementación de las fórmulas infantiles con LCPUFAs es beneficiosa para la salud de lactantes.

Estrategia de búsqueda: Identificación de los ensayos clínicos en MEDLINE, EMBASE, Lilacs, Artemisa, presentaciones en congresos, comunicaciones personales y búsqueda de la literatura gris.

Criterios de Selección: Se seleccionaron a través del sistema CONSORT y la Clasificación de Jadad, los ensayos clínicos controlados aleatorizados en los cuales al menos una de los brazos de tratamiento haya recibido una fórmula suplementada con LCPUFAs y que hubiera reportado como variables de desenlace la ganancia ponderal, el neurodesarrollo, la agudeza visual o las cifras de presión arterial. La información obtenida se captó en el paquete REVMAN Ver 4.2.7. Desde el punto de vista estadístico la información obtenida se sometió a realización de meta-análisis crudo o estratificado en el caso de que la Chi Cuadrada para heterogeneidad o la prueba de Matías Egger demostraran significancia estadística ($p < 0.05$). En el caso de variables dicotómicas se utilizó reporte de riesgo relativo (RR) con el modelo de inverso de la varianza. En el caso de variables continuas se utilizó las diferencias estandarizadas de los promedios con IC al 95%.

Resultados: Se lograron identificar originalmente 9 estudios con suficiente calidad metodológica para incluirlos en la revisión sistemática y la meta-análisis, de los cuales se excluímos uno, debido a que inició la suplementación a los 3 meses y que refinieran la variable de desenlace de interés. En forma general no se observaron francas diferencias en cuanto a la ganancia de peso (SMD - 0.08, IC95% -0.24 a 0.09, p 0.36), talla (0.02, IC95% -0.15 a 0.18, p 0.84), circunferencia cefálica (0.0, IC95% -0.18 a 0.18, p 1.0), valoración del neurodesarrollo a través de la prueba de Brunet-Lezine (0.33, IC95% -0.17 a 0.83, p 0.20) o de Bayley con sus valoraciones mental (0.03, IC95% -0.25 a 0.32, p 0.81) o psicomotriz (0.10, IC95% -0.10 a 0.30, p 0.32), medición de la agudeza visual a través de potenciales visuales (-0.10, IC95% -0.37 a 0.17, p 0.46) o a través de las tarjetas de Teller (0.12, IC95% -0.13 a 0.36, p 0.36).

Conclusiones: Existen pocos estudios aleatorizados de suplementos con LCPUFA que apoyen la hipótesis de que el suplemento con LCPUFA aporten beneficio para el desarrollo general o visual en los niños. Se han sugerido efectos menores en la agudeza visual, sin embargo parece poco probable luego del análisis de todos los estudios. Un efecto benéfico en el proceso de desarrollo es posible sin embargo son necesarios estudios con periodos más largos.

Palabras Clave: LCPUFAs, Neurodesarrollo, agudeza visual, crecimiento.

MARCO TEORICO

Los lípidos de la dieta en la infancia son fundamentales para la provisión de energía para un rápido crecimiento, para la utilización de vitaminas liposolubles y para la adquisición de ácidos grasos esenciales. Sin embargo el tipo de lípidos requerido es controversial y el interés se ha enfocado recientemente sobre la importancia de los ácidos grasos poli-insaturados de cadena larga (LCPUFA) tales como el ácido docosahexaenoico (DHA) y el ácido araquidónico (ARA). Estos ácidos grasos se encuentran en altas proporciones en los lípidos estructurales de las membranas celulares, particularmente en el sistema nervioso central. Su depósito ocurre primordialmente durante el último trimestre del embarazo y los primeros años de la vida ¹.

Durante el embarazo DHA y ARA Cruzan la placenta hacia el feto. Posnatalmente estos ácidos grasos se proporcionan con la leche materna la cual contiene un complemento total de todos los PUFA incluyendo precursores y metabolitos.

El DHA y el ARA son componentes estructurales importantes de las membranas lipídicas altamente especializadas del sistema nervioso central (SNC). DHA es el ácido graso poli-insaturado que se identifica en los conos y los bastones de la retina, donde puede constituir tanto como el 50% de los ácidos grasos en forma de fosfatidiletanolamina (PE) ^{2,3}. Estas membranas son altamente especializadas para la transmisión rápida de la luz y contienen y contienen el 90 a 95% de los lípidos como fosfolípidos. Los fosfolípidos contienen generalmente PE, PS y fosfatidilcolina (PC) en las cuales ambos grupos acilos son DHA. Aproximadamente el 10% del peso del encéfalo y 50% de su peso seco son lípidos. Cerca del 50% de estos fosfolípidos son fosfolípidos de los cuales aproximadamente el 20% es colesterol, 15 a 20% cerebrosidos y una pequeña cantidad son sulfatidos y gangliosidos ³. Los fosfolípidos de la sustancia gris del encéfalo contienen altas concentraciones de DHA en forma de PE y PS y elevadas cantidades de ARA en forma de fosfatidilinositol (PI). ARA se encuentra también presente en los fosfolípidos de membrana, principalmente en

forma de PI a lo largo de todo el organismo. A diferencia de otros órganos, el ácido grasos esencial de la dieta el ácido linoleico (LA) generalmente representa menos del 1% de los ácidos grasos presentes en el encéfalo y los ácidos grasos retinianos, mientras que las concentraciones de α -linolenico son aun mas bajas.³

Estas características de los fosfolipidos del encéfalo y la retina sugieren que existen mecanismos específicos que permiten que el cerebro y la retina acumulen grandes cantidades de DHA y ARA y que DHA posea papeles funcionales específicos en los procesos visuales y neurales.

Los estudios sobre las últimas tres décadas han proporcionado evidencia de que la depleción de DHA de la retina y el encéfalo en desarrollo producen anomalías en los potenciales evocados visuales, en el electroretinograma y en las conductas de aprendizaje⁴⁻⁹.

Cambios en las destrezas cognitivas y conductuales y en la transmisión de la información visual y auditiva podría involucrar los efectos de DHA sobre el metabolismo de neurotransmisores, actividad de los canales iónicos, señalización o expresión génica¹⁰⁻¹⁹.

ARA es esencial para el crecimiento normal y es críticamente importante a través de su papel en la señalización celular y como precursor de eicosanoides y leucotrienos los cuales también juegan un papel fundamental en la transmisión sináptica²⁰⁻²².

La acción de los ácidos grasos n6 y n3 sobre las vías fisiológicas y metabólicas puede involucrar 3 mecanismos generales: influencia de los fosfolipidos de membrana sobre el micro ambiente de las membranas bilaminares lo que puede activar las proteínas asociadas de membrana, receptores, sistemas de transporte y canales iónicos; fosfolipidos de membrana como moléculas de señalización y precursores de eicosanoides y finalmente efecto rápido y directo de n6 y n3 efecto rápido y directo sobre la expresión génica a través del receptor-proliferador activado de peroxisomas (PPAR)^{23,24}.

La diferencia en la ingesta dietética de DHA y ARA entre los infantes alimentados con leche materna y formulas infantiles y su papel importante en la función neurológica y visual ha enfocado la atención sobre la necesidad de dilucidar la capacidad de los lactantes para formar ARA y DHA a partir de LA y LNA, las vías por las cuales estos ácidos grasos son transferidos al encéfalo y la retina en desarrollo y los efectos de los n6 y n3 de la dieta sobre el crecimiento y el desarrollo neurológico y visual ^{25,26}.

Tradicionalmente las formulas infantiles han sido adicionadas solo con precursores de estos ácidos grasos esenciales (EFA), como el ácido alfa-linolenico (ALA, el precursores de los omega 3) y ácido linoleico (LA, el precursores del omega 6) a partir de los cuales los infantes alimentados con este tipo de dietas, en teoría, deben sintetizar sus propios DHA y ARA. La ausencia de LCPUFA en la formula puede ser exacerbado por la inhibición de la incorporación de LCPUFA producidos endogenamente debido a las altas concentraciones de LA presentes en la mayor parte de las formulas infantiles. Estudios bioquímicos en niños de termino y pretermo indican que los niños alimentados con formulas poseen significativamente menor cantidad de DHA y de ARA en sus eritrocitos en comparación con los niños alimentados con leche materna. Lo anterior sugiere que las formulas infantiles que contienen solo LA y ALA pueden no ser efectivas en satisfacer los requerimientos de EFA ²⁷.

Estos estudios bioquímicos son clínicamente relevantes si consideramos que la suplementación con ácidos grasos de la dieta pueden producir efectos significativos en diversas funciones fisiológicas. Se ha documentado desde hace algunos años en niños pretermino alimentados con formulas infantiles comparados con niños alimentados con leche materna reducciones significativas en la función neuronal medida por el electroretinograma (ERG), por los potenciales evocados visuales (VEP) y por mediciones conductuales de la agudeza visual. Estos parámetros fisiológicos pueden estar relacionados al estado de DHA de esos infantes ya que al ser asignados aleatoriamente a recibir

formulas suplementadas con aceite de pescado (DHA) presentaron mayor desarrollo visual que los asignados a la formula control ^{28,29}.

En un estudio, observacional no aleatorizado los niños de termino alimentados con leche materna demostraron mayor agudeza medida por VEP y niveles mas elevados de DHA que aquellos alimentados con formulas estándar y de hecho se correlaciono significativamente la función visual con el estado de DHA status.

La evidencia parece sugerir que los niños alimentados con leche materna poseen mayor coeficiente intelectual que los alimentados con formulas han aparecido en la literatura a lo largo de los años. Estos estudios por lo general no son aleatorizados y por lo tanto potencialmente confundidos por factores genéticos y socioeconómicos. Además poseen la desventaja de que no relacionan sus hallazgos a la cantidad de ácidos grasos suplementados. No obstante lo anterior algunos reportes si han sugerido que los bajos niveles de LCPUFA, tales como DHA, encontrados en los niños alimentados con formula pueden contribuir a los bajas puntuaciones del IQ reportadas en estos niños alimentados con formula ³⁰⁻³⁵.

Mas de 30 estudios aleatorizados de los efectos de las formulas de suplementación con PUFAS n-3, versus formulas control se han reportado ³⁶. Seis de los estudios, todos en niños pretermino, mostraron que el grupo de formula enriquecida con LC PUFAS n-3 tuvieron un menor peso, talla, y/o una menor circunferencia cefálica, un índice disminuido peso, talla, y/o ganancia de circunferencia cefálica, y/o menor peso – longitud a razón del tiempo durante o después del estudio en el grupo de formula control ³⁷⁻⁴³. Dos estudios adicionales uno en niños de termino y otros de pretermino, mostraron que el peso de los niños con una formula con alto contenido de Acido linoleico alfa y precursor de cadenas largas n-3 LC-PUFAS fue menor a los niños con significativamente menor contenido de ácidos grasos.^{44, 45}

Los niños de término que no son alimentados con leche humana, pueden necesitar en su alimentación ácidos grasos de cadena larga (LCPUFA), esto basado en los cambios en el plasma y en la composición del tejido graso. Sin

embargo, los efectos funcionales consistentes a través de los diferentes estudios realizados en las pasadas dos décadas han sido más difíciles de documentar. La interpretación de estos datos tiene un interés científico y público con la introducción de las fórmulas lácteas suplementadas con LCPUFAS. Existen 14 estudios controlados en donde se incluyeron niños de término sanos alimentados con fórmula con y sin suplemento de LCPUFAS, a todos se les midió función visual, y otras medidas para determinar el desarrollo neurológico, así mismo, en 7 se le evaluó medidas específicas relacionadas con el desarrollo cognoscitivo. Nosotros escogimos examinar el efecto de la dosis de DHA brindada diariamente en la dieta y su asociación con el desarrollo de la agudeza visual para explicar su responsabilidad en la agudeza visual a través de estudios aleatorizados. Se realizó una meta-regresión con el uso de la dosis efectiva de DHA como la variable independiente, y la agudeza visual a los 4 meses como la variable dependiente. Los dos determinantes en la dieta de DHA son el LNA dado y el DHA preformado y consumido, nosotros definimos como equivalente de dosis de DHA en los estudios, asumiendo a 1%, 5% y 10% de la conversión de LNA a DHA. Los resultados indican un efecto fuertemente significativo de la dosis equivalente de DHA en la magnitud de la agudeza visual; una mayor significancia fue encontrada cuando se usó el 10% de bioequivalencia ($r^2=0.68$, y $P=0.001$). Nosotros concluimos que existe una relación significativa entre el total de equivalentes de DHA dados en la dieta con la efectividad del mismo, definido como agudeza visual en niños de 4 meses de edad.

La pregunta de si los niños sanos de término que no están siendo alimentados con leche humana, necesitan ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga en su alimentación, ha tenido gran atención y ha sido el objetivo en muchas investigaciones realizadas la década pasada. La interpretación de los resultados ha incrementado el interés científico y público con la introducción reciente de las fórmulas lácteas suplementadas con DHA y ácido araquidónico (ARA). El hallazgo en el plasma y en los glóbulos rojos de la sangre de las concentraciones de decosahexaenoico (DHA) en niños alimentados con

fórmula artificial comparados con aquellos que toman leche humana sugieren que las fórmulas proveen insuficiente cantidad de ácido linoleico (LNA) o que la cantidad de enzimas que desaturan la elongación de la cadena, no son suficientemente activas durante una edad temprana para mantener la óptima utilización de los DHA en los tejidos. Sin embargo esto no es suficiente para justificar su adición a las fórmulas infantiles. Los niños de término también pueden ser dependientes de la cantidad de DHA obtenidas en la dieta para un adecuado funcionamiento y maduración de la retina y de la corteza visual. Existen 14 ensayos clínicos controlados que han incluido fórmulas con y sin LCPUFAS, y que han evaluado la función visual y otras mediciones del desarrollo neural; así mismo 7 estudios han evaluado el desarrollo psicomotor o medidas específicas relacionadas con el desarrollo cognoscitivo. Estas revisiones, tienen como objetivo los efectos de neuromaduración, particularmente los efectos en el desarrollo de la agudeza visual.⁴⁶⁻⁶⁰

Finalmente en relación con los LC-PUFAS y control de la presión arterial reportes recientes han señalado una probable asociación de la lactancia al seno materno durante la infancia con cifras menores de presión sanguínea durante la niñez. Dos estudios observacionales longitudinales en niños de término sanos, mostraron que los niños alimentados con leche humana por lo menos los primeros 3 meses de vida, tienen una presión sistólica y diastólica en la niñez y la adolescencia menor que aquellos alimentados con fórmula comercial. Esta diferencia permanece aún después de ajustar las variables confusoras. Los mecanismos que determinan la relación entre la alimentación con leche humana y la disminución en la presión sistólica y diastólica aún no se han definido.⁶¹⁻⁶³ En 1992 JS Forsyth inicio un ensayo clínico, controlado, aleatorizado en el que participaron seis centros europeos para probar los beneficios de una nueva fórmula infantil que era suplementada con ácido docosahexaenoico y ácido araquidónico. El análisis final, incluyó 219 niños (65 en el grupo de LCPUFAs y 71 en el que no tenían LCPUFAs, 83 niños alimentados con leche humana). La presión diastólica fue significativamente menor en el grupo de niños alimentados con fórmula suplementada con

LCPUFAs en comparación con aquellos que no estaban suplementados. La presión sistólica también fue menor, pero no de forma significativa. Sin embargo la presión arterial media fue significativamente menor en el grupo alimentado con fórmula con LCPUFA en comparación con el otro grupo. La presión sanguínea en el grupo alimentado con leche humana fue de 92.5 mmHg para la sistólica (DE 9.7mmHg) y 57.5 mm Hg para la diastólica (DE 8.5 mmHg). La presión diastólica en los niños alimentados con leche humana fue significativamente menor que en el grupo de niños alimentados con fórmula no suplementada con LCPUFAs (con una diferencia promedio de 3.4mmHg(intervalo de confianza de 95% 6.8 mmHg a 0.01mmHg P=0.02) sin encontrar diferencia al compararlo con el grupo alimentado con fórmula suplementada, sosteniéndose la asociación entre la intervención temprana en la dieta para obtener beneficios en la salud en la edad adulta. Dado el impacto de las cifras de presión sanguínea observada en la infancia sobre las cifras de presión en la edad adulta, este estudio pudiera ser relevante para marcar estrategias en salud pública.⁶³

OBJETIVOS

1. Evaluar la evidencia disponible en forma sistematizada para conocer si la suplementación de las formulas infantiles con LCPUFA son benéficas en términos de ganancia pondoestatural, desarrollo, agudeza visual y control de cifras tensionales y evaluar su potencial seguridad
2. Estructurar un meta-análisis con la evidencia obtenida y realizar análisis estratificado en caso de identificar potenciales fuentes de heterogeneidad

CRITERIOS PARA INCLUIR LOS ESTUDIOS EN LA REVISION

Tipo de estudios

Se consideraran en el estudio solo ensayos clínicos aleatorizados y casi aleatorizados, los cuales reporten al menos 3 meses de seguimiento. Aquellos estudios que a pesar de caer dentro de estas dos categorías se decida excluirlos, se incluirá en la revisión la justificación de dicha exclusión.

Tipos de participantes

Se incluirán en el estudio todos los ensayos que incluyan únicamente recién nacidos de término (≥ 37 semanas de edad gestacional) alimentados enteralmente con al menos una dieta con contenido de LCPUFAS

Tipos de intervenciones

Se incluirán en el estudio todas las combinaciones de suplementos con LC-PUFAS, incluyendo aquellas intervenciones a base de aceites especiales que se han utilizado para incrementar los niveles de DHA plasmáticos o eritrocitarios.

Tipos de desenlaces a considerar

Se incluirán en el estudio solo aquellos ensayos que reporten como variables de desenlace al menos uno de los siguientes indicadores clínicos: índices antropométricos (ganancia de peso en kilogramos o libras, ganancia de talla en cm. o pulgadas; cambios en la circunferencia cefálica en cm. o pulgadas o ganancia de valores Z de peso/talla, talla/edad o peso/talla); desarrollo en general (evaluado por cualquiera de los sistemas validados para la medición del neurodesarrollo tales como la escala de Bayley, CAT-CLAMS, Denver), agudeza visual medida mediante Potenciales Evocados Visuales (PEV) o Tablas de Agudeza de Teller y cambios en las cifras de presión arterial sistólica, diastólica o media en mm. de Hg.

ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA PARA LA IDENTIFICACION DE LOS ESTUDIOS

Se efectuara una búsqueda exhaustiva de la literatura en MEDLINE, PubMed, EMBASE, Oxford Database of Perinatal Trials, MEDLINE (fatty acids or docosahexaenoic acid and formula), DARE, Clinical Trials Registered, Bandolier, OVID, Science-Direct, EBSCO, LILACS y ARTEMISA.

Se utilizara la estrategia de búsqueda altamente sensible para la identificación de ensayos clínicos controlados descrita por Karen A. Robinson y Kay Dickersin en 2002.⁶⁴

Adicionalmente se establecerá comunicación telefónica o electrónica con los principales autores de esta línea de investigación con la finalidad de identificar fuentes de literatura gris relacionadas con el tema, incluyendo presentaciones en congresos, tesis, investigaciones en curso o productos de las investigaciones que no hallan sido publicadas debido a resultados negativos o por conflicto de intereses con las casas editoriales.

Cuadro 1. Estrategia sensible de búsqueda para Ensayos Clínicos

randomized controlled trial[pt] OR controlled clinical trial[pt] OR clinical trial[pt] OR
random*[ti] OR placebo*[ti] OR blind[ti] OR blinding[ti] OR trial*[ti] OR outcome*[ti] OR
randomized controlled trials[mh] OR random allocation[mh] OR double blind method[mh]
OR single blind method[mh] OR clinical trials[mh] OR placebos[mh] OR outcome
assessment[mh] OR follow up studies[mh] OR comparative study[mh] OR prospective
studies[mh]

MÉTODOS DE LA REVISIÓN

Los formatos de recolección de datos se estructuraron y completaron por los revisores principales (Pedro Gutiérrez, Marlene Ruiz y Erika Montijo) y serán revisados por Ignacio Mora. En caso de dudas o inconsistencias, la decisión del último revisor será inapelable. Las abreviaturas a utilizar incluyen: LCPUFA (longchain polyunsaturated fatty acids), LA (linoleic acid), ALA (alpha linolenic acid), AA (arachidonic acid), DHA (docosahexaenoic acid), GA (gestational age), BW (birthweight), FPL (forced preferential looking), PDI (psychomotor developmental index), MDI (mental developmental index), RBC (red blood cell).

CLASIFICACION METODOLOGICA DE LOS ESTUDIOS INCLUIDOS

La calidad de los ensayos se calificara en base al sesgo de atrición (incapacidad para completar el seguimiento), de detección (cegado de las medidas de desenlace) y de desempeño (cegamiento de la intervención). Se efectuó evaluación de la calidad de las publicaciones a través del sistema de puntuación descrito por Jadad de acuerdo a lo adecuado de la asignación de la maniobra así como utilizando los estatutos CONSORT.⁶⁵

ANALISIS ESTADISTICO DE LA INFORMACION

La información obtenida sería extraída en forma sistemática a través de un formato de recolección de datos estructurado para los fines del proyecto y captada para su análisis en el paquete REVMAN Ver 4.2.1. Desde el punto de vista estadístico la información obtenida y clasificada según la calidad de los artículos se someterá a realización de meta-análisis cruda y estratificada de acuerdo a la heterogeneidad medida por Chi Cuadrada para heterogeneidad. En el caso de variables dicotómicas se utilizara reporte de RR con el modelo de inverso de la varianza para ajuste por heterogeneidad. En el caso de variables continuas se utilizara las diferencias de promedios con IC al 95%. Al término del meta análisis crudo se efectuara meta regresión y análisis de heterogeneidad con grafico de túnel (funnel plot) para identificar posibles fuentes de heterogeneidad y posibles sesgos de publicación. En caso de que los valores de p sean significativos (< 0.05) se correrá meta-análisis estratificado.

POTENCIALES CONFLICTOS DE INTERES

Los autores de la presente revisión manifiestan la ausencia de interés dirigidos por las casas comerciales dedicadas a la producción de formulas infantiles adicionadas con LC-PUFAS

RESULTADOS

Impacto de la suplementación con LCPUFAS sobre el crecimiento

El peso, la estatura y el perímetro cefálico se reportaron en los estudios Adelaide e Inglaterra sin diferencia significativa entre los grupos en cualquier momento durante los primeros dos años de vida. El crecimiento también fue similar entre los niños con dieta suplementaria y los control entre los estudios Dallas y Portland, en los cuales los datos se expresaron como puntos z los cuales son datos expresados como desviaciones estándar a partir de las medias (los datos solo se publicaron en figuras, por lo tanto no entran en este estudio). El crecimiento fue reportado como similar a los tres meses en el estudio escocia pero los datos no fueren disponibles para la inclusión para las tablas en esta revisión (Fig. 1 a 3)

Fig. 1. Impacto de los LCPUFAS sobre la ganancia de peso

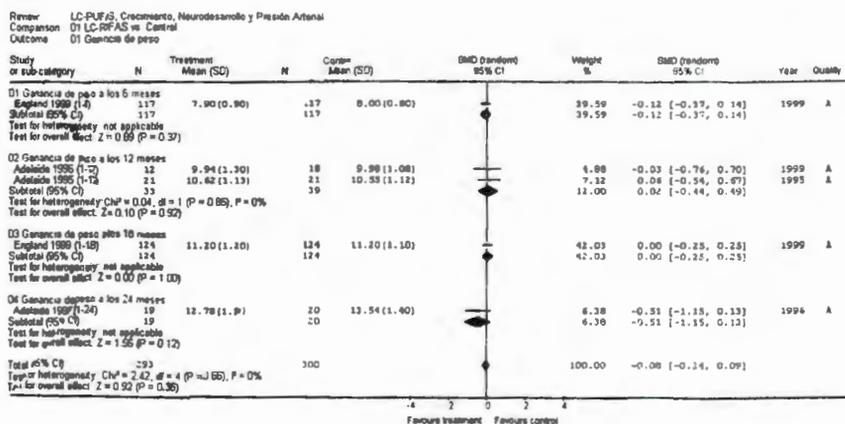


Fig. 2. Impacto de los LCPUFAS sobre el crecimiento

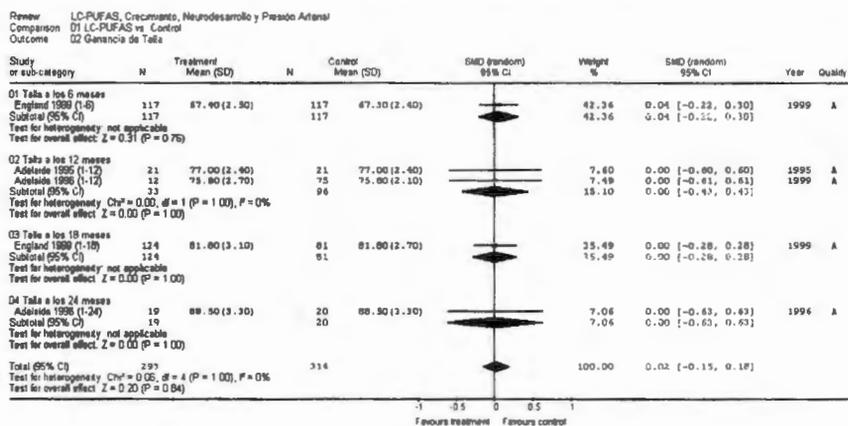
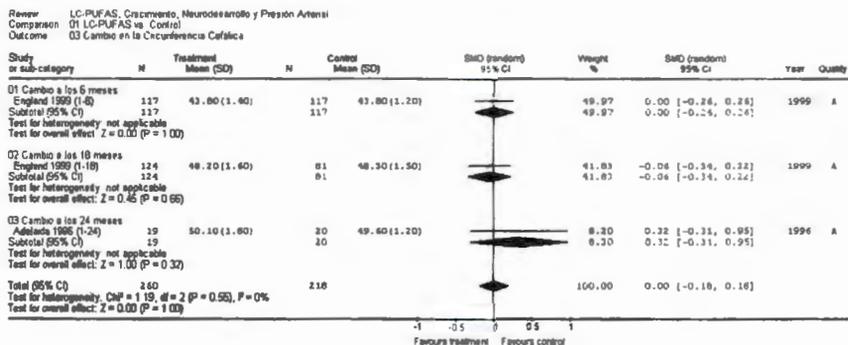


Fig. 3. Impacto de los LCPUFAS sobre la circunferencia cefálica



Impacto de la suplementación con LCPUFAS sobre el neurodesarrollo

El grupo Adelaide valoró el desarrollo general usando las escalas Bayley de desarrollo infantil (BSID) y no encontró diferencia en los puntajes de desarrollo (índice de desarrollo mental/ MDI, e índice de desarrollo psicomotor (PDI), entre los niños con dieta suplementaria y los niños control, al año de edad. El grupo

Portland evaluó el desarrollo de sus sujetos a los 12 meses usando el BSID y a los 3 años utilizando el Test de IQ Stanford Bidet. No encontraron diferencia entre los niños con dieta suplementaria y los niños control en ambos puntos de registro. (datos completos no publicados). El estudio mas largo, el estudio England no mostró efecto del suplemento con LCPUFA en el desarrollo medido a los 9 meses (Knobloch, Passamanik y Sherrards, inventario de monitores de desarrollo) o a los 18 meses (BSID). El grupo Dallas, utilizando el BSID reportó un mayor puntaje en el MDI pero no en el PDI cuando se comparo el BSID en niños con dieta suplementaria con los niños control. El estudio Milan valoro el desarrollo a los 4 meses usando el test Brunet-Lezine y encontró que en los niños con dieta suplementaria, mostraron mejores rangos que los niños control. De cualquier forma la evaluación repetida a los 12 y 24 meses utilizando los mismos parámetros no mostraron diferencia entre los cocientes de desarrollo entre los niños con suplemento y los niños control. El grupo Munich utilizó el test de desarrollo infantil Fagan el cual mide las preferencias por novedades, basado en la observación realizada, luego de una habituación a un estímulo familiar ocurrido, y se había de encontrar una preferencia por un estímulo diferente (nuevo) si los estímulos familiares y las novedades son presentados al mismo tiempo. Un puntaje de preferencias a novedades es derivado del porcentaje promedio del total de veces usadas mirando el estímulo novedoso en dos test discretos pareados comparados. Los niños con promedio de puntaje > de 57% se dice que tiene una significativa preferencia por novedad, por ejemplo el tiempo usado mirando un estímulo novedoso comparado con un estímulo familiar es mayor que éste último solo. La preferencia por novedades se ha interpretado como una medida temprana para la capacidad de procesar información (Fanag 1970) el grupo Munich documentó una alta preferencia por novedades en los niños con suplemento a los 9 meses de edad y sugirieron que esto puede indicar un desarrollo mental mejorado. El grupo Portland evaluó el desarrollo del lenguaje a los doce meses y tres años. A los doce meses no encontraron una diferencia significativa entre los grupos de suplemento y control, utilizando el inventario de desarrollo comunicativo MC Arthur pero reportaron

una correlación negativa entre el plasma y la DHA de los RBC a los 4 meses y la producción de vocabulario y comprensión a los doce meses (r 's=-0.20 a -0.37 p 's < 0.05). A los tres años no quedo diferencia entre los grupos en el desarrollo del lenguaje, en esta ocasión valorada mediante el test de vocabulario e imagen de Peabody (datos completos no publicados), En el estudio escocia, la prueba medios – para resolver problemas, fue utilizado para evaluar la ejecución intencionada de una secuencia de pasos para lograr una meta a los diez meses de edad. El puntaje intencional es la suma de los tres comportamientos sobre los cuatro casos para encontrar un juguete debajo de una manta bajo condiciones prescritas. Los rangos medianos e intercuantiles son dados y el resultado es mayor en niños con dieta suplementaria. (14.0 (11.8, 17.1) n =21 vs. 11.5 (10.0, 13.3) n =23, p = 0.035, suplemento contra control). Los investigadores comentan que los niños con dieta suplementaria tuvieron específicamente mayores puntajes en el paso final sugiriendo que la memoria o la atención mejoraron (Fig. 4 a 6)

Fig. 4 Impacto de los LCPUFAS sobre el neurodesarrollo (Brunet-Lezine)

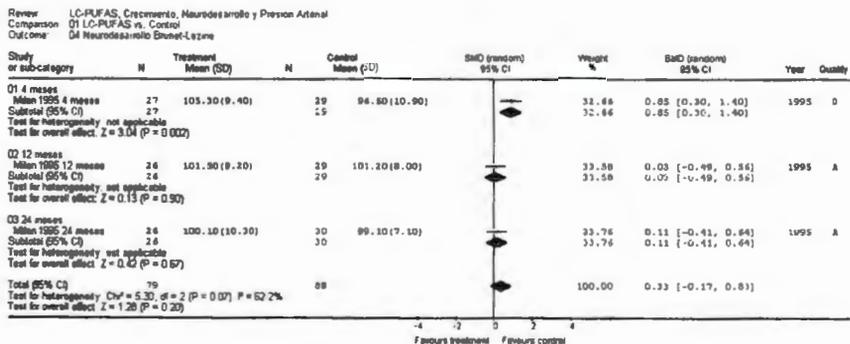


Fig. 5. Impacto de los LCPUFAS sobre el neurodesarrollo (Bayley MDI)

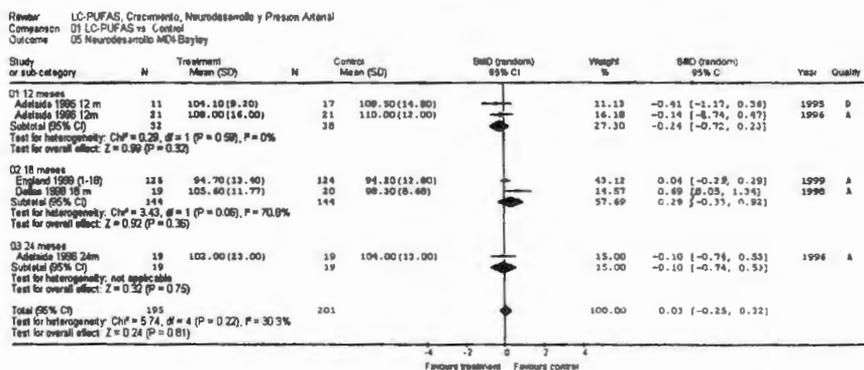
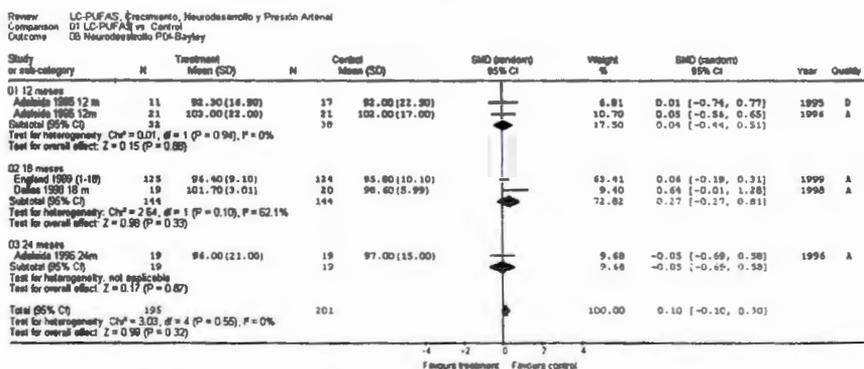


Fig. 6. Impacto de los LCPUFAS sobre el neurodesarrollo (Bayley PDI)



Impacto de la suplementación con LCPUFAS sobre la agudeza visual

La agudeza visual es una medida del elemento más pequeño que puede ser resuelto y puede ser evaluado en niños usando *entramados* lo cual consiste en líneas blancas y negras de un patrón de tablero de ajedrez. La agudeza a través del *entramado* puede ser medida usando métodos de potenciales evocados visuales y de comportamiento. Cada pareja de líneas blanca y negra es referida como un ciclo y la frecuencia espacial de un entramado es definida por el

número de ciclos por grado de Angulo visual. En tanto aumenta la frecuencia espacial (entramado) las líneas se aprecian mas finas y es más difícil la discriminación, eventualmente apareciendo en tonos grises para el observador. La agudeza (*entramado*) es la mayor frecuencia espacial en donde las líneas se pueden resolver. Los potenciales evocados visuales, muestran la actividad eléctrica cerebral que es generada en respuesta a un contraste inverso en tablero de ajedrez o un *entramado*. Los PEV, se registran de un electrodo colocado en el polo occipital y se clasifica como transitorio, (*steady state*) o (*sep*). Un PEV transitorio es estimulado por un estímulo inverso en tablero de ajedrez entre 1-3 veces por segundo, mientras que un *steady state* es estimulado por un o entre 6-20 veces por segundo. Para uno del tipo *sweep*, se utilizan los entramados de líneas blancas y negras. La amplitud de los PEV aumenta de forma lineal con la frecuencia espacial cerca del límite de la agudeza visual. La regresión lineal es usada para encasillar una línea derecha a través de la porción lineal de la amplitud del PEV contra la curva de frecuencia espacial y la agudeza visual esta determinada a partir de la intersección de la línea de regresión con el eje de frecuencia espacial. Los PEV se reportan como log MAR (ángulo mínimo de resolución) o como log (ciclos/grado). Los métodos de comportamiento para valorar la agudeza visual se basan en la fuerte preferencia mostrada por los niños para los estímulos con patrón sobre los estímulos sin patrones. Los procedimientos, como la carta de agudeza (ACP) y la mirada forzada preferencial (FPL) han sido usados en conjunto con las cartas de agudeza de Teller, para medir el desarrollo de la agudeza visual en niños. El FPL valora la agudeza binocular (*entramado*), el examinador observa al infante desde un agujero, sin saber los *Entramado* de frecuencia espacial en las cartas de evaluación. Y hace un juicio de opción forzada acerca de cual de las cartas preferirá el niño. Los registros de agudeza individuales son convertidos en log ciclos/grado y las DS son en octavos y resultan de de la división de log DS sobre 0.3. Para esta revisión, los datos de agudeza visual son analizados con DS medias +/- como valores log. El uso de valores log *preclude*, el uso de meta análisis. Así los estudios Adelaida valoraron la agudeza visual, mediante la

medición de PEV transitorios cuando los niños tenían de 4 a 7 meses de edad. La agudeza de PEV se reportaron como log MAR, lo que corresponde al patrón más pequeño de casillas blancas y negras que el niño puede discriminar en un fondo gris. (A menor el valor, mayor la agudeza). Los niños con suplemento tuvieron una mayor agudeza en PEV (un menor log MAR) cuando se compararon con niños control en ambos puntos de registro en el estudio de 1995. Este hallazgo no se confirmó en el segundo estudio Adelaide, en donde los niños que recibían la fórmula suplementada, mostraron una agudeza de PEV, en ambos puntos de registro. El estudio Portland también registro la agudeza visual electrofisiológicamente en un subgrupo de su muestra. Usaron una frecuencia espacial (sweep) de PEV y los límites de agudeza visual fueron reportados como log ciclos/grado, con DS en octavos. No encontraron diferencia en la agudeza visual entre los dos grupos durante el primer año. El grupo Dallas también midió, la agudeza visual con los PEV sweep. Y encontró una mejor agudeza en los niños con alimentación suplementaria a las 6 semanas ni a los 4 y 12 meses, pero no a los 6 meses. Sus resultados se reportan como figuras y por lo tanto los datos no pudieron ser registrados en las tablas de esta revisión. Adicionalmente la agudeza visual fue evaluada mediante la agudeza de comportamiento o de mirada forzada preferencial durante el primer año de vida en los estudios Memphis, Munich, Portlen y Dallas. En el estudio Memphis, los niños con dieta suplementaria tuvieron una mejor agudeza (rangos altos de log ciclo/grado) a los 2 meses, no así a los 4, 6,9 y 12 meses. En el estudio Munich los valores fueron reportados a los 3 meses de edad cuando no se encontró diferencia entre los grupos. El estudio Portland midió la agudeza visual en un subgrupo de su muestra y no reportaron diferencias a los 2, 4, 6,9 y 12 meses. El grupo Dallas no reporto diferencia entre los grupos a las 6 semanas 4,6 y 12 meses de edad. Los datos del grupo Dallas solo fueron disponibles en figuras y no fueron incluidos en las tablas de esta revisión (Fig. 7 y 8)

Fig. 7. Impacto de los LCPUFAS sobre la agudeza visual (PEV)

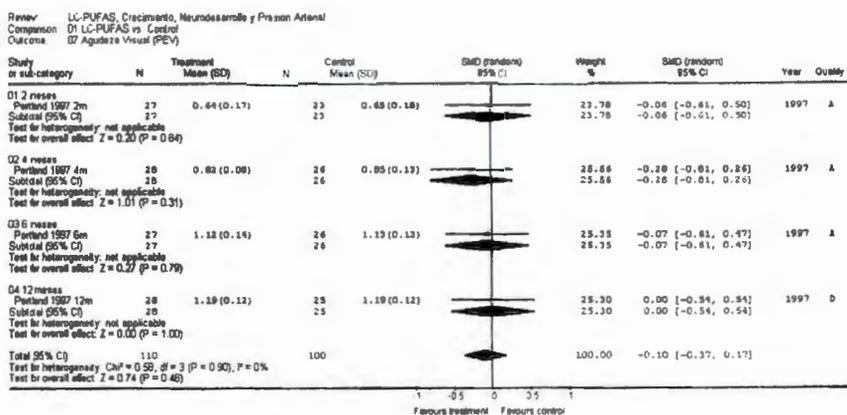
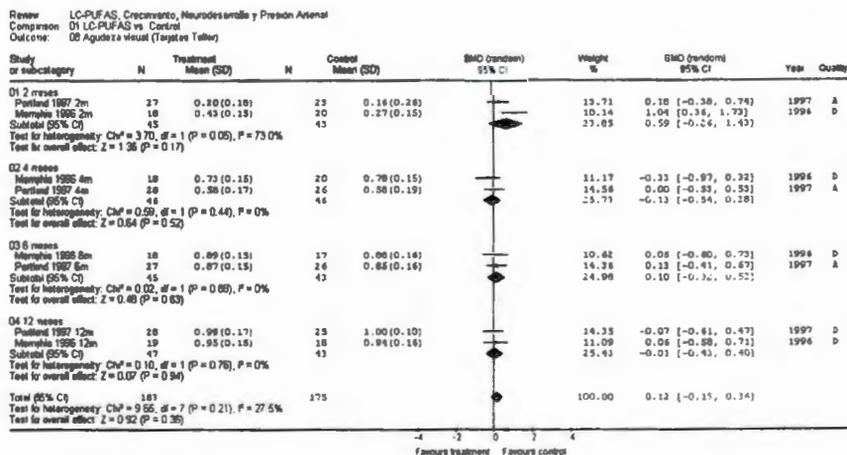


Fig. 8. Impacto de los LCPUFAS sobre la agudeza visual (Tarjetas Teller)



DISCUSION Y CONCLUSIONES

Los datos de estudios clínicos aleatorizados no demuestran beneficios claros a largo plazo para niños a término con dieta suplementaria con LC –PUFAS. No hay evidencia en las pruebas de comportamiento que la agudeza visual en los niños mejore con suplementos con LC- PUFAS. Las mediciones electrofisiológicas de la agudeza visual son más discriminatorias y los estudios en estas áreas dan resultados contradictorios. Los métodos usados para la agudeza de potenciales evocados visuales son variables y el uso de valores logarítmicos PRECLUDES meta-análisis. De cualquier forma los dos estudios más largos no mostraron ningún beneficio con dieta suplementaria (Adelaide y Pórtland 1998) sugiriendo que si existen algunos efectos son pocos.

Algunos de las diferencias entre los estudios se pueden deber a la variación de la dieta suplementaria o la formula control, particularmente en la cantidad del acido graso precursor ALA. El estudio de Adelaide encontró una ventaja en el desarrollo visual en la dieta suplementaria con PUFAS. Su dieta suplementaria contiene 0.36% de DHA y su formula control tuvo una concentración relativamente baja de ALA (1.52% de ácidos grasos) lo cual ha limitado la habilidad de los niños para sintetizar DHA. En el estudio de 1996, los investigadores Adelaide aumentaron las concentraciones de ALA y redujeron la relación LA: ALA de la formula control y no encontró diferencias en la maduración visual entre los niños con dieta suplementaria y control. El estudio Dallas en 1998 encontró también beneficios con la suplementacion en la dieta con PUFAS y su formula control también contenía el 15% de ALA.

El grupo Pórtland no encontró diferencias en la agudeza visual, evaluaron con potenciales evocados visuales y las cartas de agudeza de Teller, entre los niños control y con suplemento durante el primer año de vida. La formula control que tenía una relación LA: ALA 10 a 1 con 2% de ALA (el suplemento contenía 0.12% de DHA). Los investigadores de Pórtland comentaron acerca de las diferencias entre las metodologías para evaluar usadas para medir la agudeza visual en los estudios >Pórtland y Adelaide (tales como potenciales evocados visuales transitorios vs. steady – state, un tablero de ajedrez vs. cuadros –

ondas – ENTRAMADOS) y alcanzaron la posibilidad de que las dos técnicas pueden estar ocultando diferentes mecanismos con diferentes cursos de desarrollo en el tiempo.

La agudeza visual fue evaluada con las cartas de agudeza de Teller en el estudio Memphis y el grupo suplemento mostró tener una mejor agudeza a los dos meses pero no a los cuatro, seis nueve y doce meses. La formula suplementaria tuvo una relación LA: ALA de 11:1 con 2% de ALA y 0.1% de DHA. El estudio Munich no reporto diferencias entre los niños con dieta suplementaria y los niños control a los tres meses utilizando las cartas Teller. Su dieta suplementaria contenía DHA en 0.20% de ácidos grasos pesados (las concentraciones de LA y ALA no están disponibles).

El numero de niños con suplementacion temprana de LC PUFAS el desarrollo global fue pequeña la diferencia como se refiere en las conclusiones. Pero en los estudios Milán y Munich mostraron un mejor desarrollo por puntos en edades de 4 a 9 meses respectivamente. El suplemento en el estudio Milán contenía 0.30% de DHA de ácidos grasos pesados y su formula control con una relación 16:1 LA: ALA con 0.7% de ALA. La importancia del desarrollo del mejor desarrollo a los 4 meses fue demostrado por el estudio Milán, es dudoso, pero no se han visto diferencias en el desarrollo entre los grupos suplementados de uno y dos años ,por lo que la suplementacion con LC PUFAS no ha demostrado ser benéfico. El responsable de los niños que fueron estimulados en el primer año de vida fue usado en el estudio de Munich, este sugirió que el grupo de niños control que no recibieron suplementacion, su nivel de inteligencia fue menor que los niños suplementados con formulas con LC PUFAS. El estudio Escocia (1998) los niños de 10 meses que recibieron formula suplementada con LC PUFAS resolvieron mejor los problemas comparado con los controles.

Los estudios Adelaida y Pórtland que evaluaron el desarrollo usaron las escalas de Bayley del desarrollo de los niños y no encontraron diferencias entre los niños suplementados y controles a los 12 meses. El estudio Pórtland no encuentro diferencia en el desarrollo del lenguaje entre los niños suplementados y los controles en uno y tres años.

En 1999, Lucas et al publico el único estudio que pudo detectar diferencias en el desarrollo. Este involucro alrededor de 300 niños y no encontró diferencias en el desarrollo a los 18 meses entre el grupo control y el suplementado. La formula con suplemento contenía 0.32% DHA y la formula control 1.1% ALA. El estudio Dallas valoro el desarrollo a los 18 meses con utilización de herramientas y fue reportado un beneficio del grupo suplementado sin embargo en el estudio de Lucas et al, este beneficio no fue visto. En el estudio Dallas la suplementacion contenía 0.36% DHA y el grupo control 1.5% ALA.

En resumen, no hay un efecto en el desarrollo global de la suplementacion con LC PUFAS. No hay una evidencia de que los suplementos con LC PUFAS sean perjudiciales en el crecimiento de los niños de término. La preocupación de que la suplementacion con LC PUFAS puede reducir el crecimiento por la relación entre los bajos niveles de AA en estudios de niños pretermino con suplemento n-3 fueron mejores que los suplementados con n-6. Estudios disponibles utilizan un balance en la suplementacion n-3 y n-6.

Se concluye que existen pocos estudios aleatorizados de suplementos con LCPUFA que apoyen la hipótesis de que el suplemento con LCPUFA aporten beneficio para el desarrollo general o visual en los niños. Se han sugerido efectos menores en la agudeza visual, sin embargo parece poco probable luego del análisis de todos los estudios. Un efecto benéfico en el proceso de desarrollo es posible sin embargo son necesarios estudios con periodos más largos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Clandinin MT, Chapell JE, Leong S, Heim T, Swyer PR, Chance GW. Intrauterine fatty acid accretion rates in human brain: implications for fatty acid requirements. *Early Hum Dev* 1980;4:121-9
2. Giusto NM, Pasquare SJ, Salvador GA, Castagnet PI, Roque ME, Ilincheta de Boschero MG. Lipid metabolism in vertebrate retinal rod outer segments. *Prog Lipid Res* 2000;39:315-91
3. Sastry PS. Lipids of nervous tissue: composition and metabolism. *Prog Lipid Res* 1985;24:169-76
4. Benolken RM, Anderson RE, Wheeler IG. Membrane fatty acids associated with the electrical response in visual excitation. *Science* 1973; 182:1253
5. Bourre JM, Francois M, Youyou A, Dumont O, Piciotti M, Pascal G, Durand G. The effects of dietary α -linolenic acid on the composition of nerve membranes, enzymatic activity, amplitude of electrophysiological parameters, resistance to poisons and performance of learning tasks in rats. *J Nutr* 1989;119:1880-92
6. Innis SM. Essential fatty acids in growth and development. *Prog Lipid Res* 1991;30:39-103
7. Neuringer M, Connor WE, Lin DS, Barstad L, Luck S. Biochemical and functional effects of prenatal and postnatal w-3 deficiency on retina and brain in rhesus monkeys. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986;83:4021-5
8. Wheeler TG, Benolken RM, Anderson RE. Visual membranes: specificity of fatty acid precursors for the electrical response to illumination. *Science* 1975;188:1312
9. Yamamoto N, Hashimoto A, Takemoto Y, Okuyama H, Nomura M, Kitajima R, et al. Effects of the dietary α -linoleate/linoleate balance on lipid compositions and learning ability of rats, II: discrimination process, extinction process, and glycolipid compositions. *J Lipid Res* 1988;29:1013-21
10. Delion S, Chalon S, Herault J, Guilloteau D, Besnard JC, Durand G. Chronic dietary α -linoleic acid deficiency alters dopaminergic and serotonergic neurotransmitters in rats. *J Nutr* 1994;124:2466-76

11. de la Presa Owens S, Innis SM. Docosahexaenoic and arachidonic acid reverse changes in dopaminergic and serotonergic neurotransmitters in piglets frontal cortex caused by a linoleic and alpha linolenic acid deficient diet. *J Nutr* 1999;129:2088-93
12. Zimmer L, Vancassel S, Contagrel S, Breton P, Delmancha S, Guilloteau D, et al. The dopamine mesocorticolimbic pathway is affected by deficiency in n-3 polyunsaturated fatty acids. *Am J Clin Nutr* 2002;75: 662-777
13. Kaminski WE, Jendraschak E, Kieft R, von Schacky C. Dietary omega-3 fatty acids lower levels of platelet derived growth factor mRNA in human mononuclear cells. *Blood* 1993;81:1871-9
14. Pakala R, Sheng WL, Benedict CR. Vascular smooth muscle cells preloaded with eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid fail to respond to serotonin stimulation. *Atherosclerosis* 2000;153:47-57
15. Litman BJ, Niu SL, Polozova A, Mitchell DC. The role of docosahexaenoic acid containing phospholipids in modulating G protein-coupled signaling pathways: visual transduction. *J Mol Neurosci* 2001;16: 237-42
16. Marignani PA, Epand RM, Sebaldt RJ. Acyl chain dependence of diacylglycerol activation of protein kinase C activity in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;225:469-73
17. Leifert WR, McMurchie EJ, Saint DA. Inhibition of cardiac sodium currents in adult rat myocytes by n-3 polyunsaturated fatty acids. *J Physiol* 1999;520:671-9
18. Kitajka K, Puskas LG, Zvara A, Hackler L Jr, Barcelo-Coblijn G, Yeo YK, et al. The role of n-3 polyunsaturated fatty acids in brain: modulation of rat brain gene expression by dietary n-3 fatty acids. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:2619-24
19. Mata de Urquiza A, Liu S, Sjoberg M, Zetterstrom RH, Griffiths W, Sjoval J, et al. Docosahexaenoic acid, a ligand for the retinoid X receptor in mouse brain. *Science* 2000;290:2140-4
20. Innis SM. Present knowledge in nutrition: essential dietary lipids. Washington (DC): Int Life Sci Inst; 1996. p. 58-66

21. Mohrhauer H, Holman RT. The effect of dose level of essential fatty acids upon fatty acid composition of the rat liver. *J Lipid Res* 1963;4:153-9
22. Piomelli D. Eicosanoids in synaptic transmission. *Crit Rev Neurobiol* 1994;8:65-83
23. Clarke SD, Armstrong MK, Jump DB. Dietary polyunsaturated fats uniquely suppress rat liver fatty acid synthase and S14 mRNA content. *J Nutr* 1990;120:225-41
24. Jump DB, Clarke SD, Thelen A, Limmatta M, Ren B, Badin M. Dietary polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression. *Prog Lipid Res* 1996;35:227-41
25. Delange F. The disorders induced by iodine deficiency. *Thyroid* 1994;4:107-28
26. Innis SM. Human milk and formula fatty acids. *J Pediatr* 1992;120:S56-S61
27. Clark KJ, Makrides M, Neumann MA, Gibson RA. Determination of the optimal ratio of linoleic acid to alpha linolenic acid in infant formulas. *J Pediatr* 1992;120:S151-8
28. Uauy RD, Birch DG, Birch EE, Tyson JE, Hoffman DR. Effect of dietary n-3 fatty acids on retinal function of very low birthweight neonates. *Pediatr Res* 1990;28:485-92
29. Birch EE, Birch DG, Hoffman DR, Uauy R. Dietary essential fatty acid supply and visual acuity development. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992;33:3245-53
30. Rogers B. Feeding in infancy and later ability and attainment; a longitudinal study. *Dev Med Child Neurol* 1978;20:241-6
31. Morrow-Tlucak M, Haude RH, Emhart CB. Breastfeeding and cognitive development in the first two years of life. *Social Sci Med* 1988;26:635-9
32. Lucas A, Morley R, Cole TJ, Lister G, Leeson-Payne C. Breastmilk and subsequent intelligence quotient in children born preterm. *Lancet* 1992;339:261-4.
33. Temboury MC, Otero A, Ploanco I, Arribas E. Influence of breastfeeding on the infant's intellectual performance. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1994;18:32-6

34. Bjerve KS, Brekke OL, Bonna K, Johnson H, Vatten L, Vik T. Clinical and epidemiological studies with alpha linolenic acid and longchain n-3 fatty acids. In: Sinclair AJ, Gibson RA, editor(s). *Essential Fatty Acids and Eicosanoids. Third International Conference on Essential Fatty Acids and Eicosanoids.* Illinois: AOCS, March 1992
35. Neuringer M, Connor WE, Lin DS, Barstad L, Luck S. Biochemical and functional effects of prenatal and postnatal n-3 fatty acids on retina and brain in rhesus monkeys. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986;83:4021-5
36. Lapillonne A, Carlson SE. Polyunsaturated fatty acids and infant growth. *Lipids* 2001;36:901-11
37. Carlson SE, Cooke RJ, Werkman SH, Tolley EA. First year growth of preterm infants fed standard compared to marine oil n-3 supplemented formula. *Lipids* 1992;27:901-7
38. Carlson SE, Werkman SH, Tolley EA. Effect of long-chain n-3 fatty acid supplementation on visual acuity and growth of preterm infants with and without bronchopulmonary dysplasia. *Am J Clin Nutr* 1996;63:687-97
39. Ryan AS, Montalto MB, Groh-Wargo S, Mimouni F, Sentipal-Walerius J, Doyle J, et al. Effect of DHA-containing formula on growth of preterm infants to 59 weeks postmenstrual age. *Am J Hum Biol* 1999;11:457-67
40. Vanderhoof J, Gross S, Hegyi T. A multicenter long-term safety and efficacy trial of preterm formula supplemented with long-chain polyunsaturated fatty acids. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;31:121-7
41. O'Connor DL, Hall R, Adamkin D, Auestad N, Castillo M, Connor WE, et al. Growth and development in preterm infants fed long-chain polyunsaturated fatty acids: a prospective, randomized controlled trial. *Pediatrics* 2001;108:359-71
42. Fewtrell MS, Morley R, Abbott RA, Singhal A, Isaacs EB, Stephenson T, et al. Double-blind, randomized trial of long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation in formula fed preterm infants. *Pediatrics* 2002;110:73-82

43. Jensen CL, Prager TC, Fraley JK, Chen H, Anderson RE, Heird WC. Effect of dietary linoleic/alpha-linolenic acid ratio on growth and visual function of term infants. *J Pediatr* 1997;131:200-9
44. Jensen CL, Prager TC, Fraley JK, Chen H, Anderson RE, Heird WC. Effect of dietary α -linoleic acid intake on plasma and erythrocyte fatty acids, growth and visual function of preterm infants. *Pediatr Res* 1995;37:311A.
45. Gibson RA, Chen W, Makrides M. Randomized trials with polyunsaturated fatty acid interventions in preterm and term infants: functional and clinical outcomes. *Lipids* 2001;36:873-83
46. Makrides M, Neumann MA, Simmer K, Gibson RA. Dietary longchain polyunsaturated fatty acids do not influence growth of term infants: a randomized clinical trial. *Pediatrics* 1999;104:468-75
47. Makrides M, Neumann M, Simmer K, Pater J, Gibson R. Are longchain polyunsaturated fatty acids essential nutrients in infancy? *Lancet* 1995;345:1463-8
48. Innis SM, Adamkin DH, Hall RT, Kalhan SC, Lair C, Lim M, et al. Docosahexaenoic acid and arachidonic acid enhance growth with no adverse effects in preterm infants fed formula. *J Pediatr* 2002;140:547-54
49. Jump DB. The biochemistry of n-3 polyunsaturated fatty acids. *J Biol Chem* 2002;11:8755-8
50. Gregoire FM, Smas CM, Sul HS. Understanding adipocyte differentiation. *Physiol Rev* 1998;78:783-809
51. Forman BM, Tontonoz P, Chen J, Brun RP, Spiegelman BM, Evans RM. 15-Deoxy-delta 12, 14-prostaglandin J2 is a ligand for the adipocyte determination factor PPAR gamma. *Cell* 1995;83:803-12
52. Okuno M, Kajiwara K, Imai S, Kobayashi T, Honma N, Maki T, et al. Perilla oil prevents the excessive growth of visceral adipose tissue in rats by down-regulating adipocyte differentiation. *J Nutr* 1997;127:1752-7
53. Watkins BA, Lippman HE, Le Bouteiller L, Li Y, Seifert MF. Bioactive fatty acids: role in bone biology and bone cell function. *Prog Lipid Res* 2001;40:125-48.

54. Weiler HA. Dietary supplementation of arachidonic acid is associated with higher whole body weight and bone mineral density in growing pigs. *Pediatr Res* 2000;47:692-7
55. Clandinin MT, Claerhout DL, Lien EL. Docosahexaenoic acid increases thyroid-stimulating hormone concentration in male and adrenal corticotrophic hormone concentration in female weanling rats. *J Nutr* 1998;128:1257-61
56. Fay MP, Freedman LS, Clifford CK, Midthune DN. Effect of different types and amounts of fat on the development of mammary tumors in rodents: a review. *Cancer Res* 1997;57:3979-88
57. Ghoshal AK, Xu Z, Wood GA, Archer MC. Induction of hepatic insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) in rats by dietary n-6 polyunsaturated fatty acids. *Proc Soc Exp Biol Med* 2000;225:128-35
58. Hietanen E, Bartsch H, Bereziat JC, Ahotupa M, Camus AM, Cabral JR, et al. Quantity and saturation degree of dietary fats as modulators of oxidative stress and chemically-induced liver tumours in rats. *Int J Cancer* 1990;46:640-7
59. Baumann KH, Hessel F, Larass I, Muller T, Angerer P, Kiefl R, et al. Dietary omega-3, omega-6, and omega-9 unsaturated fatty acids and growth factor and cytokine gene expression in unstimulated and stimulated monocytes: a randomized volunteer study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:59-66
60. Pan DA, Storlien LH. Dietary lipid profile is a determinant of tissue phospholipid fatty acid composition and rate of weight gain in rats. *J Nutr* 1993;123:512-9
61. Engler MM, Engler MB, Kroetz DL, Boswell KD, Neeley E, Krassner SM. The effects of a diet rich in docosahexaenoic acid on organ and vascular fatty acid composition in spontaneously hypertensive rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1999;61:289-95
62. Mori TA, Beilin LJ. Long-chain omega 3 fatty acids, blood lipids and cardiovascular risk reduction. *Curr Opin Lipidol* 2001;12:11-7
63. JS Forsyth, P Willatts, C Agostoni, J Bissenden, P Casaer, G. Bohem. Long chain polyunsaturated fatty acid supplementation in infant formula and blood

pressure in later childhood: follow up of a randomized controlled trial. *BMJ* 2003;326:1-5

64. Karen A. Robinson. Development of a high sensible search strategy for the retrieval of reports of controlled trials using Pubmed. *Int J Clin Epidemiol* 2002;31_150-153
65. David Moher Msc, Kenneth F, Schulz PhD, MBA, Douglas Altman Dsc. The CONSORT Statement: Revised recommendations for Improving the Quality of Reports of Parallel.Group Randomized Trials. *Ann Intern Med* 2001;134:657-662